ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1981 THESE : 141

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'INTRADERMOREACTION A LA PHYTOHEMAGGLUTININE

THESE

Pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1981

par

Patrick, Jean SAINT-MARTIN

Né le 1er décembre 1957 à TARBES (Htes-Pnées)

Membres du Jury

Président : ..... Monsieur FEDOU
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : ..... Monsieur GUELFI
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur DARRE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1981 THESE : 141

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'INTRADERMOREACTION A LA PHYTOHEMAGGLUTININE

THESE

Pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1981

par

Patrick, Jean SAINT-MARTIN

Né le 1er décembre 1957 à TARBES (Htes-Pnées)

Membres du Jury

Président : ..... Monsieur FEDOU
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse
Assesseurs : ..... Monsieur GUELFI
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Monsieur DARRE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : ..... M.LAUTIE
Directeur honoraire : ..... M. FLORIO
Professeurs honoraires : ..... M. BRIZARD
..... M. SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT
CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. GODFRAIN
Professeur sans chaire ..... Mme BURGAT-SACAZE

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire ..... M. RICO
Professeur sans chaire ..... M. BRAUN
Maître Assistant ..... M. BENARD

Physique Biologique et Médicale
Chimie Biologique et Médicale
Informatique biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire ..... M. PAVAUX
Maître Assistant ..... M. LIGNEREUX
Maître Assistant ..... M. SAUTET

Organogénèse - Tératologie
Anatomie Générale - Anatomie Appliquée

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE, PHARMACODYNAMIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire ..... M. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire ..... M. FARGEAS
Maître Assistant Agrégé ..... M. TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie - Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire ..... M. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire ..... M. CABANIE
Maître Assistant Agrégé ..... M. MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique - Clinique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire ..... M. LABIE
Maître de Conférences ..... M. EECKHOUTTE
Maître Assistant Agrégé ..... Mme BENARD

Hygiène - Inspection - Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale - Clinique

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire ..... M. DORCHIES
Maître de Conférences ..... M. FRANC
Maître Assistant ..... M. DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Ecologie - Parasitologie externe -
Dermatologie - Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE
DES EQUIDES ET CARNIVORES ET DE LEGISLATION

Professeur titulaire ..... M. LESCURE
Maître de Conférences ..... M. GUELFI
Maître Assistant ..... M. REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL
ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire ..... M. TOURNUT
Maître de Conférences ..... M. BEZILLE
Maître Assistant ..... M. JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du bétail et des animaux de basse-cour
Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire ..... M. CAZIEUX
Maître de Conférences ..... M. GENEVOIS
Maître-Assistant ..... M. AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale - Radiologie - Technique Chirurgicale - Anesthésiologie
Pathologie Chirurgicale - Clinique - Traumatologie - Podologie orthopédique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire ..... M. FERNEY
Professeur sans chaire ..... M. ROYAL

Pathologie de l'appareil génital et de la mamelle - Sémiologie et Propédeutique - Pathologie de la
Reproduction - Obstétrique et pathologie du nouveau-né - Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES -
LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire ..... M. CHANTAL
Maître Assistant ..... M. PICAVET

Epidémiologie - Maladies contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. LAUTIE
Maître Assistant ..... M. PELLERIN

Microbiologie - Immunologie - Pathologie Générale

CHAIRE D'ELEVAGE ET ECONOMIE

Professeur titulaire ..... M. QUEINNEC
Professeur sans chaire ..... M. DARRE
Maître Assistant ..... Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique animale - Extérieur - Zootechnie et Economie générales - Ethologie
appliquée, Sciences, Techniques, Economie de l'Elevage et des Productionsanimales
Insémination artificielle - Organisation de l'Elevage

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire ..... M. FALIU
Professeur sans chaire ..... M. GRIESS

Botanique appliquée et Bromatologie - Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs : ANGELIER, ARMENGAUD, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, et MAZENC.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsable des opinions émises par les candidats
(Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924).

A MES GRANDS-PARENTS,

Avec toute mon affection.

A MES PARENTS,

Qu'ils trouvent ici le modeste témoignage de mon amour et de ma gratitude pour tous leurs sacrifices.

A MA SOEUR.

A MA FEMME.

A MA FAMILLE.

A MES AMIS.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543924_0057

A NOTRE PRESIDENT DE THESE.

Monsieur le Professeur
de l'Université Paul Sabatier de Toulouse.

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage très respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE.

Monsieur le Professeur GUELFI
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Au cours de nos études, puis en nous guidant dans l'élaboration de cette thèse, nous avons apprécié la qualité de votre travail et le dévouement dont vous faites preuve.

Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et de notre admiration.

Monsieur le Professeur DARRE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Qui a eu l'amabilité d'accepter de faire partie de notre jury.

Nous lui exprimons nos remerciements et notre respect.

A Monsieur le Professeur QUEINNEC
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Qui nous a permis de consulter la bibliothèque de son service.

Sincères remerciements.

A Madame BERLAND
Ingénieur agronome.

Pour votre accueil toujours chaleureux et bienveillant, votre disponibilité, nous vous exprimons notre profonde reconnaissance et nos sentiments respectueux.

TABLE DES ABREVIATIONS

-o-o-o-o-

B.C.G. : Bacille de Calmette et Guérin.

Con A : Concanavaline.

D.M.S.O. : Diméthylsulfoxyde

D.N.C.B. : Dinitrochlorobenzène.

E.A.C. : Erythrocyte-Antigène-Complément (complexe).

I.D.R. : Intra-Dermo-Réaction.

Ig : Immunoglobuline

M.I.F. : Migrating Inhibiting Factor.

P.H.A. : Phytohemagglutinine extraite de Phaseolus vulgaris.

PwM : Pokeweed-Mitogène.

T.M.L. : Test de Migration Leucocytaire.

T.T.L. : Test de Transformation Lymphoblastique.

I N T R O D U C T I O N

-o-o-o-o-o-

Notre étude consiste en la recherche d'un test de l'immunité cellulaire facile à utiliser et fiable.
De récents travaux, effectués surtout chez l'homme, nous ont conduit à envisager l'utilisation de l'Intra-Dermo-Réaction à la Phytohemagglutinine de Phaseolus vulgaris, mitogène aspécifique, test qu'il serait très facile de pratiquer dans l'exercice courant de la médecine vétérinaire et qui permettrait au praticien :

. de mieux comprendre certains mécanismes pathologiques

. de n'avoir pas recours, dans la mesure du possible, aux autres examens d'exploration de l'immunité cellulaire, souvent longs et coûteux, et finalement très peu utilisés.

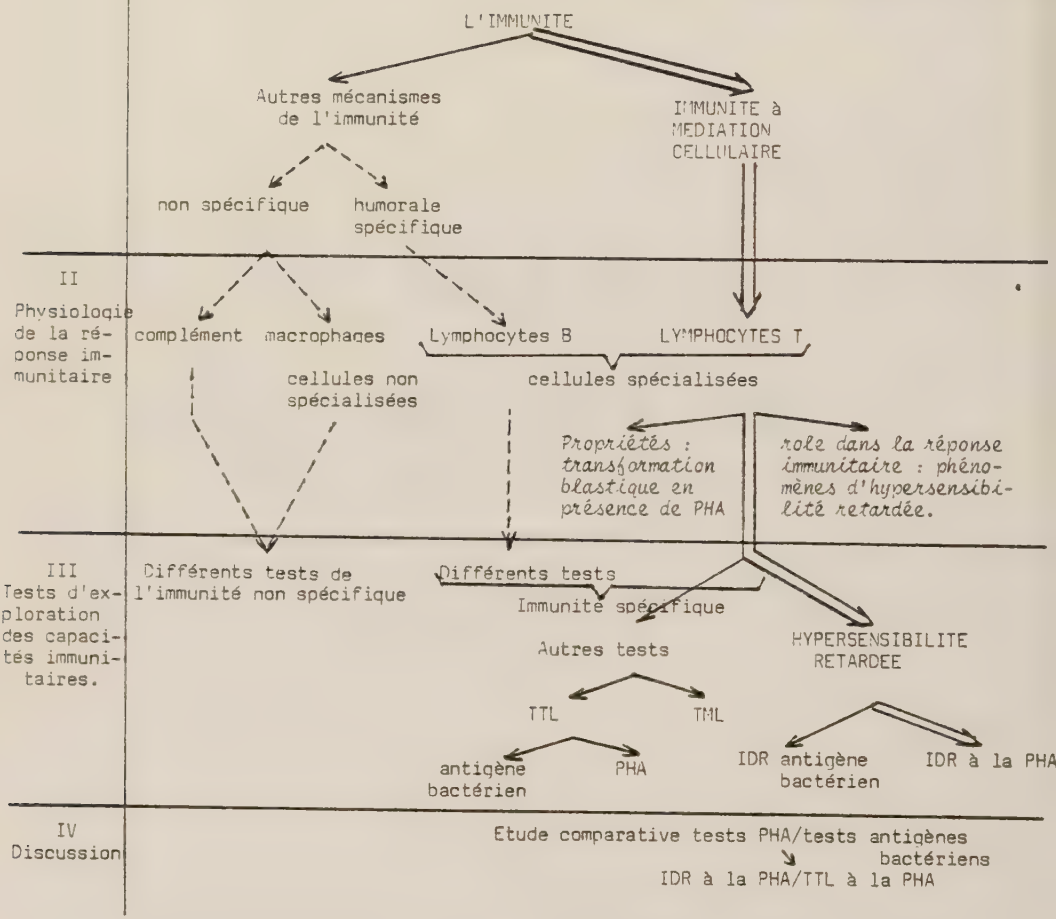
L'IDR à la PHA, si son intérêt est confirmé, constituerait une innovation au sein de la gamme des examens complémentaires à la disposition du clinicien.
Pour tenter de mener à bien ce travail, nous dégagerons, dans la première partie, l'originalité théorique de ce test de l'immunité cellulaire, tandis qu'une deuxième partie, pratique, nous permettra d'interpréter ses résultats, propres, mais aussi en comparaison des autres moyens d'exploration immunitaire.

PREMIERE PARTIE

L'I.D.R. A LA P.H.A. : ORIGINALITE THEORIQUE VIS A VIS DES AUTRES TESTS DE L'IMMUNITE

*

I- Le PHA



Ceci nous permettra de mieux situer l'IDR à la PHA et de faire ressortir certaines idées maitresses qui sous-tendront la suite de l'étude.

I - ETUDE DE LA PHYTOHEMAGGLUTININE OU PHA.-

I.1.- Origine du terme.

L'emploi de ce terme au singulier est incorrect, nous l'utiliserons seulement dans un but de simplification du vocabulaire pour désigner la Phytohemagglutinine extraite de Phaseolus vulgaris. En fait, des substances analogues sont largement distribuées dans la nature. La première propriété mise en évidence, l'agglutination de nombreux types cellulaires et particulièrement les erythrocytes (17), leur origine végétale (graines de légumineuses, mais aussi, feuilles, racines, écorce) sont à l'origine du terme phytohemagglutinine. Mais depuis leur découverte chez diverses espèces animales, surtout des Invertébrés, on utilise le terme général de lectines proposé par WOYD (63).

I.2.- Propriétés biologiques.

I.2.1.- Erythroagglutination.

Si la majorité des lectines sont aspécifiques, parmi lesquelles la PHA, agglutinant avec la même intensité, les érythrocytes humains normaux du système A, B, O, quel que soit le groupe sanguin, d'autres par contre (8% environ) agglutinent uniquement les érythrocytes d'un groupe sanguin particulier.

I.2.2.- Cytoagglutination.

La Concanavaline, par exemple, possède la propriété d'agglutiner préférentiellement les cellules transformées par les virus oncogènes ainsi que les cellules spontanément cancéreuses et embryonnaires jeunes, tandis que les cellules normales ne sont agglutinées qu'après une protéolyse légère.

I.2.3.- Mitogénicité.

Certaines lectines,parmi lesquelles la PHA, la Con A',le Pokeweed-Mitogène, sont capables de stimuler la transformation et la multiplication des lymphocytes normaux du sang avec une spécificité envers les lymphocytes T pour les deux premières. Cette observation fut retrouvée avec d'autres cellules normales : lymphocytes des diverses formations lymphoïdes, cellules épithéliales humaines, hépatocytes de rat, cellules embryonnaires âgées, protozoaires.
Plus récemment, il a été démontré au contraire, une antimitogénicité envers les cellules tumorales et les cellules embryonnaires jeunes, c'est-à-dire les cellules agglutinables.

I.2.4.- Précipitation des macromolécules glucidiques.

Certaines lectines sont capables de précipiter des polysaccharides végétaux et bactériens et aussi des glycoprotéines plasmatiques.

I.2.5.- Conclusion.

Parmi les remarquables propriétés de ces lectines, nous ne retiendrons ici que celle de la PHA d'entraîner la transformation blastique. Bien qu'elle se fixe indifféremment sur les lymphocytes B et T, son activité préférentielle sur la lignée T nous permet de la considérer comme un matériel de choix pour l'étude de l'immunité à médiation cellulaire.
La PHA joue donc le rôle d'un antigène aspécifique, entraînant le même effet qu'un antigène normal vis à vis d'un lymphocyte sensibilisé à ce même antigène.

I.3.- Propriétés physico-chimiques, mode d'action.

Les observations biologiques ont été le point de départ de nombreuses recherches concernant les caractéristiques physico-chimiques des lectines, leurs sites réactifs, les sites récepteurs des membranes cellulaires et la dualité des activités agglutinantes et mitotiques.

La PHA, comme toutes les lectines sauf la ConA est une glycoprotéine extraite de la graine de Phaseolus vulgaris par chromatographie d'affinité et échanges d'ions (26). Il s'agit d'un tétramère de poids moléculaire 128.000 à PH neutre. Par électrophorèse, à PH 8,9, on a réussi à isoler cinq isomères, dont certains ont seulement une activité lymphostimulante. Notons que du point de vue chimique, elle est dépourvue d'acides aminés soufrés et que le mannose est le principal ose.
Le mécanisme d'action des lectines n'est pas clair, il semblerait que leurs effets sur les cellules résulteraient d'un phénomène de surface.
Aussi un rappel est-il nécessaire à propos de la structure et du rôle de la membrane cellulaire (9). La face externe de la membrane comporte un revêtement de glycoprotéines qui agiraient comme sites de reconnaissance vis à vis des autres cellules ou de substances exogènes, jouant ainsi un rôle essentiel dans la croissance et la différenciation cellulaire et donc dans le contrôle de la morphogénèse par le phénomène de l'inhibition de contact intercellulaire. Or, toute transformation dans la vie de la cellule s'accompagne d'une modification structurelle de ces glycoprotéines, d'où la prolifération anarchique dans les néoplasies.
L'utilisation de lectines marquées a permis de prouver que l'interaction entre la lectine et les sites récepteurs cellulaires

(chaines oligosaccharidiques de la glycoproteine) constitue le préalable à l'initiation des activités biologiques de la lectine, que la cellule soit normale ou transformée (9),(17),mais l'effet qui en découle est opposé :

. agglutination et anti-mitogénicité pour les cellules transformées (ex : cellules cancéreuses)

. non agglutination et effet mitogène pour les cellules normales (ex : lymphocytes).

Une première hypothèse mentionnant que les cellules transformées fixaient davantage de lectine que les autres chez qui les sites récepteurs étaient occultés, s'est avérée inexacte.
En fait, il est généralement admis qu'un réarrangement des sites récepteurs des lectines, sous la forme d'un groupage en un point de la cellule, intervient durant la transformation cellulaire (ex : cancérisation)les rendant ainsi agglutinables. Tandis que lorsque la distribution est uniforme, on n'observe pas d'agglutination mais un effet mitogène avec stimulation de la synthèse d'acides nucléiques.

II - PHYSIOLOGIE DE LA REPONSE IMMUNITAIRE.-

II.1.- Les cellules non spécialisées : les macrophages.-

Ce sont des cellules issues de la lignée monocytaire, fixées au niveau des tissus et possédant la propriété de phagocytose, aidées en cela par des opsonines ou des anticorps cytophiles. Ils constituent un maillon essentiel dans la voie afférente de l'immunité, en métabolisant l'antigène et libérant un super-antigène plus immunogénique, interprétable par les lymphocytes.

II.2.- Les cellules spécialisées : les lymphocytes.-

II.2.1.- Les lymphocytes B.

Issus de la moëlle osseuse, ils ont une vie courte de 4 à 5 jours, sont responsables de la sécrétion d'anticorps IgM puis IgG, dont la présence est démontrée au niveau de la membrane cellulaire par immunoflorescence. Les plasmocytes en dérivent et sont eux, capables de stocker une grande quantité d'immunoglobulines dans leur cytoplasme.

II.2.2.- Les lymphocytes T.

II.2.2.1.- Propriétés.

Issus de la moëlle osseuse, ils effectuent un passage obligatoire par le thymus et se localisent ensuite au niveau de la région cor-

ticale des ganglions, des aires périartériolaires de la rate et des formations lymphoïdes de l'intestin.
Il faut différencier deux types selon la durée de vie :

. Les lymphocytes à courte durée de vie : 4 à 5 jours

. Les lymphocytes à longue durée de vie ou lymphocytes-mémoires.

Il existe différents marqueurs des cellules T :

. Chez la souris, l'antigène thèta n'est porté que par les lymphocytes T, ce qui permet de fabriquer un sérum anti-thèta.

. Le sérum antilymphocytaire agit presque exclusivement sur les lymphocytes T

. Les lymphocytes T sont capables de former des rosettes hétérologues avec les hématies de mouton.

. Les techniques d'immunofluorescence montrent que les lymphocytes T ne sont porteurs que d'une quantité infime d'immunoglobulines de membrane (monomère Ig M 7S) très inférieure à celle des lymphocytes B.

. Les lymphocytes T sont les seuls à subir la transformation blastique en présence de PHA.

II.2.2.2.- Rôle dans la réponse immunitaire à médiation cellulaire.

On distingue :

. les lymphocytes T helper qui ont un grand rôle dans la coopération avec les lymphocytes B

. les lymphocytes T cytotoxiques qui ont une cytotoxicité directe sur des cellules recouvertes de petites quantités d'anticorps spécifiques.

. les lymphocytes T producteurs de lymphokines ; il s'agit de facteurs chimiotactiques attirant les macrophages et les maintenant en place tels que le MIF ou des facteurs cytotoxiques.

. les lymphocytes T suppresseurs.

Citons particulièrement deux phénomènes à médiation cellulaire :

. L'état d'hypersensibilité cutanée de type retard, les lymphocytes T sensibilisés à l'antigène se multiplient et libèrent des lymphokines. Ainsi l'injection intra-dermique d'un antigène provoque une réaction locale 48 heures plus tard chez un individu sensibilisé.

. De même, les lymphocytes T sont responsables du rejet d'allogreffe de peau.

En conclusion, nous retiendrons que les lymphocytes T sont les seuls aptes à subir la transformation blastique en présence de PHA et sont aussi responsables des phénomènes d'hypersensibilité retardée.

III - TESTS D'EXPLORATION DES CAPACITES IMMUNITAIRES.-

III.1.- Immunité non spécifique.-

Cela consiste à explorer la phagocytose, ce qui pratiquement intervient en dernier lieu, ce déficit étant l'un des derniers à avoir été décrit et identifié avec certitude.
Au niveau humoral, l'intervention bien connue du complément, de ses fonctions dans l'opsonisation, la phagocytose, la bactériolyse doit amener à explorer tous ses facteurs.

III.2.- Immunité spécifique.-

III.2.1.- Humorale.

III.2.1.1.- Les Immunoglobulines.

L'électrophorèse simple des protéines sériques ne permet de déceler qu'un déficit global, alors que le dosage spécifique de chaque immunoglobuline est possible en utilisant la méthode d'immunodiffusion radiale.
Par ailleurs, on peut rechercher dans le sérum des anticorps habituellement présents tels que des antistreptolysines, antistaphylolysines ou bien des anticorps post-vaccinaux.

III.2.1.2.- Exploration spécifique des lymphocytes B.

Outre les biopsies de zones B-dépendantes il est possible d'étudier les lymphocytes B du sang. Ils sont reconnaissables en microscopie électronique aux digitations qui hérissent leur surface. La recherche des Immunoglobulines de membrane par des anti Ig fluorescentes permet de décompter avec précision le nombre de cellules B et de déterminer le type d'anticorps qu'elles fabriquent.

La propriété des lymphocytes B de fixer le facteur C3 du complément et par son intermédiaire d'un complexe érythrocyte-anticorps-

complément (EAC) est utilisable pour réaliser un test des rosettes.

III.2.2.- Cellulaire.

III.2.2.1.- Examens courants.

La numération lymphocytaire dans le sang circulant est essentielle dans l'exploration de la voie T puisque 80% des lymphocytes circulants sont des lymphocytes T.
Toutefois l'étude de la lymphocytose sanguine ne constitue qu'une approche très partielle des problèmes posés par les lymphocytes, cellules dont la vie se déroule en majeure partie dans le secteur extra-vasculaire. Ainsi une lymphopénie n'est souvent significative que dans les déficits majeurs.
En outre, une radiographie du thorax peut permettre chez le jeune de juger du développement du thymus.

III.2.2.2.- Exploration spécifique des lymphocytes T.

. L'étude des zones thymodépendantes s'effectue le plus souvent sur le cortex profond des ganglions, après une stimulation antigénique.

. L'identification des lymphocytes T est possible grâce au microscope électronique : les digitations de surface sont plus petites et plus rares que celles des lymphocytes B.
Un test des rosettes peut aussi être pratiqué en présence d'hématies de mouton.

. Repèrages dynamiques des lymphocytes T :
Nous n'envisageons ici ni la culture mixte de lymphocytes qui consiste à apprécier l'importance de la transformation blastique lorsque deux populations lymphocytaires sont mises en présence, ni le test de lymphocytotoxicité à médiation cellulaire,mais seulement le simple test de transformation lymphoblastique.Cette transformation des lymphocytes T provoquée par la PHA est interprétée par lecture optique ou par mesure de l'incorporation de thymidine tritiée (en nombre d'impulsions par minute). Rappelons que le test de transformation lymphoblastique est aussi réalisable grâce à une stimulation antigénique chez des individus sensibilisés.

III.2.2.3.- Exploration des phénomènes à médiation cellulaire.

- Recherche d'un état d'hypersensibilité cutanée de type retardé.

* Tests cutanés avec un antigène microbien.
Ils nécessitent obligatoirement une sensibilisation préalable de l'individu, d'où une sensibilisation artificielle de l'individu, ou bien l'utilisation d'antigènes banals. De toutes façons, si une réaction positive exclue en principe un déficit de l'immunité cellulaire, une réponse négative ne peut être interprétée que dans le cas où on a la certitude d'une positivité antérieure.

* Sensibilisation active par le 2-4 Dinitrochlorobenzène.
Il s'agit d'un antigène synthétique qui permet d'étudier les capacités d'un sujet à se sensibiliser à un nouvel antigène. En effet, l'expérience montre que dans certains déficits acquis, de l'immunité cellulaire, il y a persistance de la mémoire immunologique mais perte de la capacité de sensibilisation à un nouvel antigène tel que le 2-4-D.N.C.B.
La sensibilisation s'opère par une ou plusieurs touches cutanées successives. Un mois après, on recherche si le sujet est bien sensibilisé par une nouvelle touche de moindre concentration, qui provoque alors une réaction locale.
Ce test est d'un grand intérêt mais il présente les inconvénients d'être long à mettre en oeuvre et de provoquer parfois des réactions trop intenses.

* Tests cutanés à la PHA.
C'est dans ce cadre que nous plaçons ce test, nous évaluerons son intérêt dans la partie "discussion".

- Rejet d'une homogreffe de peau.
Une augmentation du temps de rejet peut témoigner d'un déficit de l'immunité cellulaire.

- Mise en évidence d'un déficit en lymphokines.
En utilisant divers dispositifs in vitro, on peut explorer directement la libération par les lymphocytes T sensibilisés, en présence de l'antigène correspondant, de divers médiateurs, tels que le facteur chimiotactique, le facteur de transfert, le facteur inhibant la migration des macrophages (MIF).
En fait, pour mettre en évidence ce déficit en lymphokines, on utilise le plus souvent le test de migration des leucocytes (TML) Dans les conditions normales, les leucocytes migrent spontanément dans des tubes capillaires ; mis en présence de lymphocytes sensibilisés et de l'antigène correspondant, leur migration est inhibée du fait de la libération des lymphokines.

IV - DISCUSSION.-

IV.1.- Intérêt de la PHA par rapport aux antigènes microbiens.

Deux moyens sont à notre disposition pour étudier les capacités de réaction des lymphocytes :

. soit en les soumettant à une sollicitation antigénique : tuberculine, candidine, streptokinase... Cela nécessite une sensibilisation préalable de l'individu, ce qui est rarement le cas chez les jeunes qui n'ont pas encore eu d'occasions d'être en contact avec ces antigènes ; dans ces cas une sensibilisation artificielle, telle la vaccination avec le B.C.G., peut être pratiquée, mais elle présente l'inconvénient d'entraîner une perte de temps, d'autre part, il peut être dangereux de réaliser une vaccination avec une souche vivante, même atténuée, chez un sujet suspecté d'immunodéficience cellulaire.
L'utilisation du 2-4-D.N.C.B. est une méthode longue donc exclue en cas d'urgence.

. Soit en les soumettant à une solliciation par la PHA, mitogène aspécifique des lymphocytes T.
Cette méthode a pour avantages :
. Elle ne nécessite aucune sensibilisation initiale.
Cela permet un gain de temps appréciable, une efficacité chez tous les individus, quel que soit leur passé immunologique,c'est à dire qu'il n'est nullement besoin de preuves d'une positivité antérieure.

. Sa parfaite innocuité.
L'absence d'antigénicité de la PHA élimine tout risque de réaction dangereuse pour le sujet testé.

. In vivo, la reproductibilité de son emploi peut être fréquente, rapprochée dans le temps sans danger ni risque d'atténuation ou d'augmentation de la réponse cutanée.

IV.2.- Différents modes d'utilisation de la PHA.-

IV.2.1.- In vitro.-

Comme d'ailleurs les antigènes microbiens, il est possible d'ajouter la PHA à une culture de lymphocytes. Le test de transformation lymphoblastique à la PHA explore la capacité des lymphocytes de se transformer et se multiplier sous forme de lymphoblastes. Le comptage des lymphoblastes après trois jours de culture permet de mesurer le pourcentage de transformation. Nous rappelerons ici la définition de l'Index de Stimulation : il s'agit du rapport entre le pourcentage de lymphoblastes apparus dans une culture lymphocytaire en présence de PHA et le pourcentage de lymphoblastes apparus dans une culture témoin.

IV.2.2.- In vivo : intradermoréaction.-

Ce test était en principe réalisé avec des allergènes microbiens sur des individus sensibilisés en faisant appel au mécanisme de l'hypersensibilité cutanée retardée. Est-il possible d'apparenter l'IDR à la PHA à une réaction d'hypersensibilité retardée ?

IV.2.2.1.- Etude macroscopique.-

La réaction cutanée à la PHA n'est pas distinguable de la réaction aux antigènes microbiens tels que la tuberculine. Un érythème et une induration commencent à apparaître localement à partir de la 6ème-12ème heure et atteignent un maximum en 24 à 48 heures. Il existe toutefois une différence pour le délai optimum de lecture. Il est supérieur pour les antigènes microbiens: 48 à 72 heures, par rapport à la PHA : 24 à 48 h.
Signalons que chez le rat, aucune réaction n'est perçue aussi bien in vivo qu'in vitro (49).

IV.2.2.2.- Etude histologique.-

- Travaux de Burgio (13).
L'auteur a comparé les cytologies de réactions cutanées après inoculation de diverses substances :

* Injection intradermique d'un soluté salé isotonique.

La biopsie n'a révélée aucune différence entre le derme normal, et le derme ainsi injecté.

* Injections intradermiques de tuberculine, streptokinase, PHA.

Les résultats histologiques sont du même type quelle que soit la substance injectée.
24 heures après l'injection il y a formation de manchons périvasculaires de lymphocytes, granulocytes, macrophages et mastocytes. Des granulocytes sont aussi disséminés dans le chorion. Dans une deuxième temps, les granulocytes des manchons périvasculaires migrent à travers le chorion où ils dégénèrent tandis que les autres cellules restent groupées autour des vaisseaux. Certains lymphocytes présentent des figures de mitoses. Ce tableau histologique est typique d'une réaction d'hypersensibilité cutanée retardée.

* Injection intradermique de l'antigène lipopolysaccharidique de Salmonella typhi.

Rappelons que cet antigène est incapable de provoquer la transformation blastique. On obtient une réaction cutanée positive ; la biopsie montre seulement une infiltration tissulaire de granulocytes avec une certaine concentration périvasculaire. Ces cellules migrent et dégénèrent au bout de 48 heures. Cela repré-

sente uniquement le schéma d'une réaction inflammatoire non spécifique sans intervention de mécanismes immunitaires.

- Travaux de SARKONI et CARON (48).
Sachant que la PHA in vitro entraîne la transformation blastique, mais aussi stimule les mitoses des cellules de la couche basale de l'épithélium humain, les auteurs ont étudié l'effet mitogène de la PHA sur la peau du cobaye in vivo.

Si macroscopiquement les résultats ne sont pas surprenants : formation d'un érythème et d'une légère induration avec acanthose, maxima en 24 h et disparaissant en 4 jours, microscopiquement, leurs résultats sont particulièrement différents de tous les autres obtenus tant chez l'homme que chez le cobaye dans les années qui ont suivi.

Ils constatèrent, outre une infiltration modérée du derme par des lymphocytes et polynucléaires, sans précisions supplémentaires, surtout une augmentation très nette (X 3) du nombre de mitoses des cellules basales de l'épiderme et des couches de cellules épidermiques. Les auteurs concluent que la PHA a un effet mitogène direct sur les cellules épidermiques et passent sous silence l'effet de la PHA sur les lymphocytes excluant ainsi l'intervention d'un processus immunologique.

IV.3.- Conclusion.-

IV.3.1.- Signification de l'IDR à la PHA.-

Si tous les auteurs sont d'accord pour rejeter l'hypothèse selon laquelle la réaction à la PHA in vivo serait une réaction inflammatoire aspécifique ou un phénomène d'Arthus, toutefois deux avis s'opposent : s'agit-il ou non d'un phénomène immunologique ?

De toutes façons, il existe un réel parallélisme entre la sensibilité de la peau et des lymphocytes à la PHA. Ces deux réactions, transformation blastique et réaction cutanée, vont toujours de pair : présentes chez le cobaye, absentes chez le rat (49).

Mais est-ce dû à la seule propriété mitogénique de la PHA ou bien à un mécanisme immunologique de type hypersensibilité retardée où la PHA jouerait le rôle d'un allergène aspécifique ? Pour notre étude, nous prendrons l'hypothèse, retenue par la majorité des auteurs, selon laquelle l'IDR à la PHA induit un phénomène d'hypersensibilité retardée basé donc sur les mécanismes de l'immunité à médiation cellulaire. Nous justifions cette décision par les faits suivants :

. L'aspect macroscopique est comparable à celui d'une IDR à un antigène microbien, malgré une plus grande précocité de la

réponse à la PHA. L'érythème local qui suit souvent l'injection serait dû à un phénomène d'hypersensibilité immédiate avec production d'IgE anti-PHA (61). Il disparaît toujours en 20 minutes.

. L'aspect histologique est comparable à celui des réactions cutanées d'hypersensibilité retardée aux antigènes microbiens.

IV.3.2.- Comparaison de l'effet de la PHA in vivo et in vitro.-

. Le test de transformation lymphoblastique à la PHA teste la capacité de transformation et multiplication des lymphocytes T en culture presque pure.

. L'IDR à la PHA d'une part entraîne aussi la transformation et la multiplication blastique comme dans le cas précédent mais in vivo ; il est donc impossible ici de dénombrer les lymphocytes stimulés. D'autre part elle teste la capacité des lymphocytes T de sécréter des lymphokines telles que le MIF qui va attirer les macrophages, cellules d'ailleurs absentes dans les cultures in vitro. L'IDR à la PHA fait donc appel à plusieurs types cellulaires pour constituer la réaction contrairement au test in vitro.

. Il paraît donc logique de supposer que la corrélation des deux tests ne sera pas absolue et dans ces cas des examens complémentaires, test de migration leucocytaire, test de la réponse inflammatoire, seront à notre disposition pour mieux comprendre les divergences de résultats qui sont d'ores et déjà prévisibles puisque les principes de ces deux tests à la PHA ne sont pas parfaitement superposables.

. L'IDR à la PHA n'est pas un test de remplacement des autres méthodes d'exploration de l'immunité cellulaire. Il faut la considérer simplement comme une nouvelle méthode avec ses faiblesses, mais aussi ses avantages :
. de non spécificité contrairement aux allergènes microbiens

. de facilité et faible coût contrairement au test de transformation lymphoblastique.

Connaissant actuellement l'originalité théorique de ce test, nous essaierons, dans la prochaine partie, grâce à une étude au sein d'une population témoin et au sein d'une population immunodéprimée et à l'appui des autres tests de l'immunité, de démontrer sa fiabilité et donc si sa simplicité d'utilisation justifie son emploi.

DEUXIEME PARTIE

L'I.D.R. A LA P.H.A. : RESULTATS PROPRES ET COMPARATIFS DE CE TEST D'EXPLORATION DE L'IMMUNITE CELLULAIRE

*

I - CHEZ UNE POPULATION TEMOIN : RECHERCHE DE NORMES D'UTILISATION ET D'INTERPRETATION.-

I.1.- Chez les animaux domestiques.-

Parmi les différentes espèces d'animaux domestiques, nous retiendons particulièrement le chien pour son intérêt clinique quotidien et le cobaye pour son intérêt expérimental.

I.1.1.- Espèce canine.

Nous n'avons pu, dans la littérature actuelle, trouver de documents relatant un protocole d'étude précis de ce test aussi bien chez le chien que dans les autres espèces animales, la détermination des normes d'interprétation ayant toujours été réalisée sur un petit nombre d'animaux témoins, dans un but immédiat de comparaison avec les résultats d'animaux pathologiques. Nous reporterons ces résultats dans la partie II consacrée aux cas d'immunodéficience. C'est donc à partir des travaux effectués chez l'homme sur une grande échelle que nous serons mieux à même d'établir les normes générales d'utilisation et surtout d'interprétation de ce test.
Mais,dans un souci d'objectivité, il nous a paru utile de citer brièvement les moyens actuellement les plus communément utilisés pour apprécier l'immunité cellulaire chez le chien, ce qui nous permettra de mieux situer l'innovation apportée par l'IDR à la PHA.

I.1.1.1.- Méthodes in vitro.

Le but de cette étude de THILSTED (56) est de comparer l'utilisation de la PHA et des antigènes microbiens dans le test de transformation lymphoblastique (TTL).

- Matériel et méthodes.

* Animaux
Il s'agit d'une population de chiens en bonne santé dont une partie est sensibilisée à la tuberculine par une ou plusieurs injections intradermiques de 0,2 ml de vaccin B.C.G., ou bien par une ou plusieurs injections sous-cutanées de 0,25 ml d'un mélange à parties égales de vaccin B.C.G. et d'adjuvant de Freund .

* Tests pratiqués.
Une série de TTL est effectuée en utilisant soit la PHA, soit la tuberculine ; les résultats obtenus sont comparés chez des animaux sensibilisés ou non.

- Résultats.

* TTL à la PHA.
La réponse est toujours très forte, d'intensité uniforme, et s'observe pour tous les animaux, après une durée d'incubation de la culture de 4 jours.

* TTL à la tuberculine.
Chez les chiens immunisés, la réponse des lymphocytes est toujours nette, quoique moins uniforme que la réponse à la PHA. Elle est supérieure lorsque les chiens ont été immunisés avec le mélange B.C.G. + adjuvant de Freund (++++) par rapport au B.C.G. seul (+++). Il faut attendre 6 jours d'incubation des lymphocytes pour que la réponse soit optimale.

Chez les chiens non immunisés ou immunisés avec d'autres antigènes, un léger effet mitogène (+) est observé dans certains cas, au bout de 6 jours d'incubation de la culture lymphocytaire. Le taux de transformation blastique est nettement supérieur par rapport aux cultures témoins. Cela semble du à une primo-sensibiliation in vitro ; ces phénomènes sont éliminés si l'on réduit à 4 jours la durée d'incubation.

- Discussion.
Cette étude démontre l'intérêt du TTL à un antigène bactérien pour déterminer la sensibilité d'un individu à cet antigène, donc directement pour tester l'immunité cellulaire. Ces résultats sont bien corrélés avec ceux du TTL à la PHA, celui-ci ayant l'avantage, outre l'uniformité de la réponse, d'explorer l'immunité de tous les individus, quel que soit leur passé immunitaire.

I.1.1.2.- Méthodes in vivo.

THILSTED (55) cherche à démontrer ici la fiabilité de l'IDR à un antigène bactérien pour explorer l'immunité cellulaire. Jusqu'à présent, les tests cutanés étaient peu utilisés chez le chien en raison d'un grand nombre de réactions inflammatoires non spécifiques ; mais actuellement, ces erreurs sont supprimées grâce à l'injection d'antigènes contenant très peu d'impuretés.

- Matériel et méthodes.

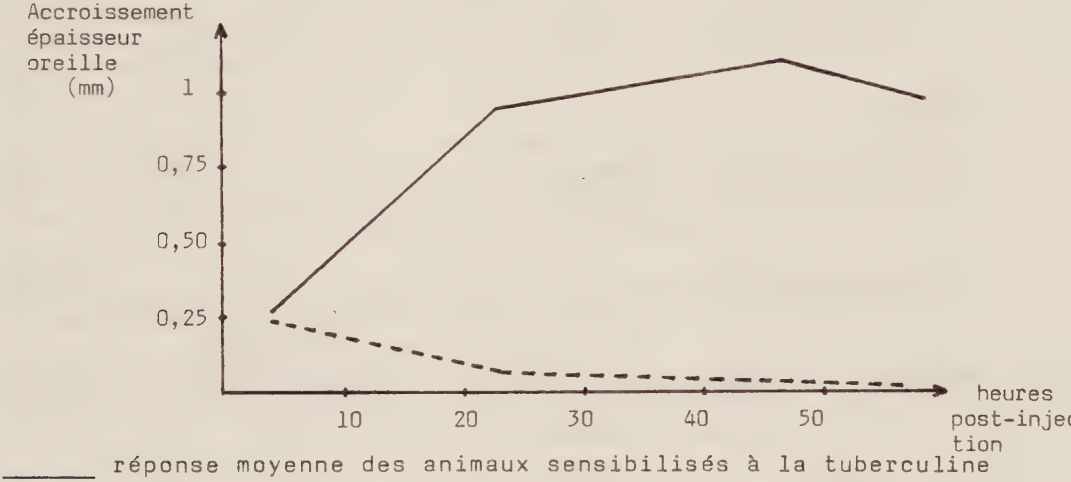
* Animaux.
Une partie d'une population de chiens sains est immunisée grâce à une ou plusieurs injections intradermiques de 0,1 ml de vaccin B.C.G.

* Tests pratiqués.
Il s'agit d'injections I.D. de 0,1 ml de tuberculine en face interne de l'oreille. La lecture a lieu 48 h après par mesure au

pied à coulisse de l'accroissement d'épaisseur de l'oreille et non du diamètre de l'induration.

- Résultats.

* Lecture IDR
L'épaisseur est maximale à 48 heures. Tous les animaux sensibilisés donnent une réponse nette, bien que variable, contrairement aux autres animaux comme en témoigne la courbe ci-dessous :



_____ réponse moyenne des animaux sensibilisés à la tuberculine

------ réponse moyenne des animaux témoins, ou immunisés avec d'autres antigènes, ou ayant reçu un soluté salé isotonique afin de déterminer s'il n'y avait pas de réaction aspécifique due à l'injection elle-même.

* Biopsie.
L'histologique est typique d'un phénomène d'hypersensibilité retardée (HSR).

- Discussion.
Cette étude démontre la fiabilité des techniques basées sur l'HSR pour explorer les capacités de l'immunité cellulaire ; les animaux, une fois immunisés répondent positivement à la sollicitation antigènique, preuve que leur système immunitaire fonctionne parfaitement.
Nous comprenons bien ici l'intérêt de l'IDR à la PHA qui permettrait, si elle se révèle fiable, de supprimer le premier temps d'immunisation.

I.1.1.3.- Comparaison des méthodes in vivo et in vitro.

Le but de l'étude de THILSTED (54) est de déterminer si les résultats obtenus in vivo,sont en corrélation avec ceux obtenus in vitro.

- Matériel et méthodes.

* Animaux.
Une partie des animaux est sensibilisée à la tuberculine comme dans l'étude précédente.

* Tests pratiqués.
Il s'agit d'injections ID de 0,1 ml de tuberculine en face interne de l'oreille, lues 48 heures après, de TTL à la tuberculine et de TML en présence de tuberculine, les cellules migrantes étant des polynucléaires neutrophiles, sur gélose. Le TTL est considéré positif au dela de 2.000 désintégrations par minute.

- Résultats .

* Corrélation IDR-TTL
Augmentation épaisseur IDR $\geqslant$ 0,25 mm et TTL $\geqslant$ 0 : 94% des cas
Augmentation épaisseur IDR $<$ 0,25 mm et TTL $<$ 0 : 100% des cas
la corrélation est excellente (r = 0,88).

* Corrélation IDR-TML
Augmentation épaisseur IDR $>$ 0,25 mm et TML $<$ 0 (pas de migration) : 84% des cas
Augmentation épaisseur IDR $<$ 0,25 mm et TML $>$ 0 (migration) : 56% des cas
la corrélation est moyenne (r = 0,55).

- Discussion.
Si cette étude confirme la fiabilité du TTL par comparaison aux réactions d'HSR, elle met par contre en doute celle du TML, du moins dans ces conditions expérimentales. Toutefois une technique d'inhibition de migration utilisant des cellules mononuclées pourrait se révéler plus fiable, ce qui a été démontré chez l'homme.

I.1.1.4.- Conclusion.

Le test de transformation lymphoblastique et l'intradermoréaction sont des méthodes fiables et bien corrélées entre elles pour tester l'immunité cellulaire. Nous percevons bien l'intérêt de la PHA pour son aspécificité, sa capacité d'exploration chez tout sujet sans immunisation préalable, mais aussi de l'intradermoréaction, très facile à pratiquer et moins coûteuse que le TTL, deux avantages non négligeables en médecine vétérinaire.

I.1.2.- Chez le cobaye.

Comme chez le chien, des travaux ont été menés chez le cobaye (45) pour tester l'immunité cellulaire qui ont abouti aux mêmes conclusions de corrélation entre les tests in vitro et in vivo utilisant des antigènes microbiens, mais qui ont aussi démontré que la réponse in vitro, plus sensible, pouvait précéder celle in vivo.

C'est en 1963 que SHRECK et STEFANI (49) ont recherché pour la première fois, l'effet de la PHA en injection intradermique. Ils trouvent que l'érythème et l'induration se développent chez tous les sujets testés dans les 24 heures.
L'évolution retardée de la réponse cutanée, de même que l'aspect histologique d'infiltration périvasculaire mononuclée, sans cellules polynuclées à 48 heures leur suggèrent que cette réponse est à médiation cellulaire, donc basée sur le même principe qu'une réaction d'HSR à un antigène chez un sujet sensibilisé.

Ils remarquent aussi que les lymphocytes et lymphoblastes traités à la PHA étaient résistants aux rayons X contrairement à ces cellules non traitées.

Ils concluent que la réaction à la PHA in vivo peut être interprétée comme une réaction d'HSR et peut donc être utilisée pour tester l'immunité à médiation cellulaire.

I.2.- Chez l'homme.-

Outre les études de SHRECK (49) menées conjointement chez l'homme et chez le cobaye, des travaux plus récents ont permis de définir le protocole d'utilisation et d'interprétation de l'IDR à la PHA en analysant les résultats obtenus au sein d'une population témoin.

Si, chez le chien, nous n'avons pu qu'évoquer les autres tests utilisés par manque d'informations sur l'IDR à la PHA, mais tout en suggérant l'intérêt de ce dernier, chez l'homme par contre, tous ces examens sont fréquemment pratiqués, au moins à titre expérimental et il nous a paru intéressant, par souci d'objectivité, d'en citer un en particulier : la "multipuncture", en raison de sa mise au point récente (1980) puisque cet examen original, par sa fiabilité et son mode d'emploi est le plus proche de l'IDR à la PHA.

I.2.1.- La "multipuncture".

Il s'agit de rechercher les normes d'interprétation de ce test mis au point par LESOURD (35) à partir d'une population de référence.

- Matériel et méthodes : originalité.

* Sujets testés.
Il s'agit de sujets sains de 15 à 80 ans.

* Le test de "multipuncture".
Les antigènes utilisés sont au nombre de 7: tuberculine, anatoxine tétanique, diphtérique, candidine, proteus, streptocoque, trychophyton. L'appareil d'injection, composé de 8 têtes de multipuncture constituées chacune de 9 pointes espacées de 1 mm, permet l'injection simultanée des antigènes et du témoin (glycérol à 70%).
La réaction est appréciée d'une manière collective et non individuelle, ce qui permet de définir une positivité d'ensemble en additionnant les diamètres moyens des réactions positives ($\geqslant$2mm): le score.

- Résultats.

* Par antigène.
Le pourcentage de réponse moyen est de 64% avec des extrêmes à 30% (trychophyton) et 90% (tuberculine).
Ce pourcentage diminue chez les personnes âgées, surtout les femmes.

* Le score.
Il est étroitement corrélé avec le nombre de réponses positives ($p < 0,005$) ; il suffit donc à l'expérimentateur de compter le nombre de réponses positives pour savoir si le patient est anergique ou non. On considère qu'il y a hypoergie pour un score $\leqslant$5 mm, c'est à dire pour 0 ou 1 réponse positive.
Les résultats moyens sont pour les hommes : 23,65 mm avant 65 ans et 19,8 mm au delà, sans différence significative.
Pour les femmes, il est de 16,95 mm jusqu'à 65 ans et de 12,65 mm au dela, la différence est significative, due aux antigènes de vaccination.
Le pourcentage de scores positifs varie de 100 à 81% en fonction de l'âge avec une moyenne de 90,6% de positivité chez cette population d'individus sains.

- Discussion.
L'utilisation d'un seul antigène ne permet pas toujours de juger l'état immunitaire d'un sujet (70% de réponses négatives pour Trychophyton chez des sujets parfaitement immunocompétents). Par contre, l'utilisation d'une batterie d'antigènes, facile puisqu'injectés simultanément, permet d'augmenter la probabilité pour l'individu d'avoir été antérieurement en contact avec l'un ou l'autre de ces antigènes, donc de réduire sensiblement le pourcentage de scores négatifs malgré une immunité cellulaire intacte : 9,4%.

Bien que par principe diffèrent de l'IDR à la PHA, car spécifique, l'originalité de ce test lui confère une bonne fiabilité et

permet d'avoir une réelle appréciation des facultés immunitaires à médiation cellulaire dans un nombre de cas maximum, avantage que l'on espère tirer de l'IDR à la PHA.

I.2.2.- L'intra-dermo-réaction à la Phytohemagglutinine.

Nous nous attacherons ici à synthétiser les résultats obtenus par différents auteurs propres à l'IDR à la PHA et en comparaison des autres tests de l'immunité cellulaire. (5),(6),(7),(8),(14),(34),(38),(60),(61).

I.2.2.1.- Matériel et méthodes.

- Sujets testés.

Il s'agit dans tous les cas d'une population indemne de tout déficit de l'immunité cellulaire, d'âge variable ou plus particulièrement d'enfants (8),(60),(61) ou de personnes âgées (38).

- Tests pratiqués.

* L'IDR à la PHA.

• La PHA.

A partir de la PHA commercialisée sous forme lyophylisée, les auteurs la diluent dans du sérum physiologique - phénolé à 5% (8) - de manière à arriver à la concentration voulue : 5, 10, 20, 50, 100 µg/ml.

La conservation se fait : sous forme lyophylisée 2 ans à 4°
sous forme diluée 1 mois à 4°
6 mois à -20°.

WAGNER (60) conserve la PHA au congélateur en seringues prêtes à l'emploi car une deuxième décongélation en diminuerait l'activité.

• Volume injecté - lieu d'injection.

Après nettoyage et désinfection à l'acool-éther, l'injection d'un volume de 0,1 ml est pratiquée en face externe du bras grâce à une seringue à tuberculine graduée au 1/100 de ml.

• Dose injectée.

Certains auteurs ont injecté une dose unique :
1 µg (34), 10 µg (14)
5 µg (60), dose considérée spécifiquement d'usage pédiatrique.

D'autres ont injecté des doses croissantes :
2 µg et 10 µg si pas de réponse à 2 µg (6)
1 - 2 - 5 µg (5)
0,5 - 1 - 10 µg (8)

• Délai de lecture
Contrairement à la lecture des tests intradermiques aux allergènes microbiens qui intervient le plus fréquemment à 72 heures, ici le délai n'est jamais supérieur à 48 heures.
La lecture à 24 heures (61) allie les avantages d'une réponse et d'une rapidité maxima.
La lecture entre 24 et 48 heures est préférée par la majorité des auteurs qui pensent qu'elle est maximale à cette période. LAWLOR (34), BONFORTE (6) ont trouvé une réponse à 48 heures inférieure à celle de 24 heures.
La lecture à 48 heures (8) est préférée par BOURRIER, l'érythème ayant souvent disparu à ce moment, ce qui facilite la mesure de l'induration.

La mesure de la réaction se fait grâce à une règle transparente aussi bien pour l'érythème que pour l'induration.
La plupart des auteurs ne considèrent que le diamètre de l'induration comme signe de réaction, l'érythème etant facultatif à 48 heures. WAGNER (61) a démontré qu'il existe une relation linéaire entre le diamètre de l'érythème et celui de l'induration en opérant une lecture à 24 heures.

* Autres tests pratiqués conjointement.

• In vivo (14) (6).
Il s'agit d'IDR à des antigènes microbiens (Streptokinase, Candidine) et de ponctions-biopsies.

• In vitro
Le TTL à la PHA a été pratiqué comparativement dans la majorité des travaux.

I.2.2.2.- Résultats.

- Etude propre de l'IDR à la PHA.

* Cinétique du phénomène observé.
WAGNER (60) signale, après certaines injections, l'apparition dans la minute d'une réaction érythémateuse mal délimitée non prurigineuse qui disparaît en 10 à 20 minutes. Il attribue cela à un phénomène d'hypersensibilité immédiate du à des IgE anti-PHA.
D'une manière générale, un érythème et une induration apparaissent à partir de la 6ème heure, devenant maxima entre la 24 et la 48ème heure. L'érythème à ce moment n'est pas toujours présent. La réaction disparaît souvent en 72 h et en 5 jours au plus tard.

Les seules réactions rencontrées sont celles de toute injection intra-dermique, aucune sensation douloureuse, nécrose cutanée, poussée lymphangitique n'a été observée. Seul un léger prurit est ressenti les premières heures. Toutefois, pour des doses très

élevées ($\geq$ 100 µg), il y a développement d'une ulcération et d'une nécrose.

* Quantification du phénomène observé.
Il est important de distinguer, d'une part le pourcentage de cas positifs et d'autre part le diamètre des réactions positives.

• Pourcentage de cas positifs.

. En fonction de la dose injectée.
C'est BOURRIER (8) qui a effectué l'étude la plus précise. Tous âges confondus les résultats sont les suivants :
0,5 µg : 57% de réponses positives
1 µg : 78% de réponses positives
10 µg : 98% de réponses positives.
Donc, au fur et à mesure que les concentrations augmentent, le pourcentage de réponses positives croit également, quel que soit l'âge des sujets. Ceci semble justifier le choix de la dose de 10 µg pour obtenir une réponse positive, donc interprétable, chez un maximum de témoins.

. En fonction de l'âge.
A la dose de 10 µg, BONFORTE (6) obtient 100% de réactions positives, même chez les prématurés. Pour BURGIO (14), la réponse à cette même dose n'a été que de 81,4% jusqu'à 3 mois pour atteindre 100% ensuite. Chez les personnes âgées, LEWI (38) obtient un pourcentage de réactifs de 70,1%.
Entre les extrêmes, les résultats avoisinent ou atteignent les 100%. Donc le taux de réponse, sauf exception chez les personnes âgées est excellent et paraît indépendant de l'âge. Rappelons que l'immunocompétence est effective dès la 25ème semaine de la vie foetale ; il n'y a aucune raison pour que les nouveaux-nés soient moins réactifs.

. En fonction du sexe.
Il n'existe aucune différence significative.

• Intensité de la réponse.
Si, au niveau du pourcentage de réactions positives, on constate une grande unanimité entre les auteurs, par contre, le diamètre des réactions observées est variable et il serait inutile de tout reporter ici en valeur absolue. Nous étudierons donc cette intensité en fonction de divers paramètres.

. En fonction de la dose injectée.
D'après BLEASE (5), la taille de la réaction est proportionnelle à la dose injectée.

	DOSE INJECTEE µg		
	1	2	5
Diamètre de l'induration en mm	12	17	25

. En fonction de l'âge.
Comme pour le pourcentage de positivité, l'intensité moyenne est stable sauf aux extrémités. Ainsi, la réponse obtenue les deux premières années de la vie diffère de façon hautement significative ($p < 0,01$) de celle obtenue au delà. La réponse se stabilise ensuite et diminue d'intensité chez le vieillard seulement (38).

	AGE DU SUJET		
	1°année	2°année	3° année
Diamètre moyen de l'induration en mm	6,3	6	7,9

Résultats de BOURRIER (8).

Dans le cas particulier des grands prématurés, l'intensité de la réaction est plus faible que chez un nouveau-né normal, certainement en raison d'une plus faible surface corporelle.

. En fonction du sexe.
Ici encore, aucune différence statistiquement significative n'a été observée.

* Remarque.
La pratique de plusieurs tests successifs chez le même sujet n'a entraîné aucune différence de résultats comme l'on pouvait s'y attendre après l'étude théorique de la PHA.

- Etude comparative de l'IDR à la PHA.
Les tests présentés ci-dessous ont été réalisés conjointement à l'IDR à la PHA.

* Par rapport à l'IDR à un antigène bactérien.

• Intensité de la réaction.
La cinétique de la réaction est identique à celle de l'IDR à la PHA, mais l'intensité est maximale en général à 72 heures et non à 36 heures (dans le cas de la PHA).

• Pourcentage de réactions positives.
BURGIO (14) a réalisé une étude très complète de l'IDR à la PHA en comparaison de l'IDR à la Streptokinase en fonction de l'âge dont voici les résultats.

A G E	0 - 3 mois	4 - 6mois	7 - 12mois	2 ans	3 - 5 ans	6 - 8 ans	9 - 11 ans	12 - 15 ans
% réponse > 0 à la PHA	81,4	100	100	100	100	100	100	100
% réponse > 0 à la STK	4,5	27,2	40	50	46,6	73,6	92,5	100

Pour BONFORTE (6), sur 15 enfants positifs à l'IDR à la PHA, deux seulement ont été positifs à la candidine et aucun à la streptokinase.

Pour BOURRIER (8), le taux de réponse à la streptokinase arrive à peine à 50% sur des enfants déjà grands alors qu'il est de 98% à la PHA 10 µg. Ce score est encore plus faible que celui obtenu avec 0,5 µg de PHA (57%).

D'une manière générale, tous les sujets normaux négatifs aux allergènes microbiens se positivent à la PHA preuve donc que malgré leur immunité intacte, ils ne réagissent pas à ces antigènes simplement par manque de contact préalable. D'autre part, ils ont tous développé une réaction cutanée retardée au 2-4-DNCB.

Signalons toutefois une exception : il s'agit de deux cas négatifs à la PHA et positifs à l'IDR à la candidine et à la streptokinase et aussi au test de transformation lymphoblastique à la PHA.

• Conclusion.
L'IDR à la PHA permet sans aucun doute une meilleure appréciation de l'immunité cellulaire que les allergènes microbiens particulièrement chez les enfants, peu exposés encore. Ainsi le dépistage d'un éventuel déficit peut être précoce.
Lors de ces travaux, les auteurs se sont placés dans les conditions naturelles puisque, sauf pour le 2-4-DNCB, ils n'ont pas pratiqué de sensibilisation artificielle telle que la vaccination au B.C.G., ce qui entraîne une perte de temps pouvant avoir des

conséquences néfastes. On comprend aussi l'intérêt de la multi-puncture dont les résultats se rapprochent davantage de ceux de l'IDR à la PHA.

* Par rapport au TTL à la PHA.

Pour avoir une meilleure vue d'ensemble des relations entre ces deux tests, il nous a paru nécessaire d'effectuer cette comparaison chez des sujets sains mais aussi immunodéprimés pour nous situer dans le cas d'IDR négatives.

• Résultats obtenus par différents auteurs.

. BURGIO (14).

Pour lui, la corrélation est parfaite avec 100% IDR positives et 100% de TTL positifs chez des individus sains.

. LEWI (38).

Sur 33 IDR négatives chez des personnes âgées, il trouve :

13 TTL absolument négatifs
6 TTL avec 1% de lymphoblastes
13 TTL avec entre 2 et 6% de lymphoblastes
1 TTL avec 18% de lymphoblastes.

Malgré quelques discordances, une corrélation très étroite entre la réaction cutanée et la stimulation blastique apparaît très nettement par l'évaluation statistique des résultats avec une probabilité inférieure à 1% pour que la corrélation soit due au hasard.

Il note également qu'il n'existe pas de parallélisme quantitatif entre le nombre de blastes et l'intensité de la réaction cutanée la plus forte stimulation in vitro fait apparaître 75% de blastes alors que la réaction cutanée n'est que de 10 mm,
la plus forte réaction cutanée, de 25 mm est associée à la présence seulement de 11,5% de blastes.

. WAGNER (60).

Sur 42 TTL effectués, il trouve 81% de cas de corrélation avec l'IDR à la PHA et 4 cas d'IDR positives et TTL négatifs, 4 cas d'IDR négatives et de TTL positifs.

. LAWLOR (34).

Que les sujets soient normaux ou immunodéprimés, la corrélation entre les deux tests est bonne, avec

Chez les individus sains 1 cas de divergence : IDR négative, TTL positif .

Chez les individus immunodéprimés, 6 cas de divergences dont 1 cas d'IDR négative et TTL positif chez un patient atteint de candidose chronique et 5 cas d'IDR positives et TTL négatifs.

Tout comme LEWI, il remarque que le degré d'intensité de la réaction cutanée est sans rapport quantitatif avec la réponse in vitro.

. BOURRIER (8).

Sur 310 enfants normaux testés grâce à l'IDR à la PHA, 12 sont né-

gatifs ; le TTL demandé à titre de vérification s'est toujours révélé normal. Il existe donc un certain nombre de réactions cutanées faussement négatives. Par contre, il est impossible ici de dire s'il existe des réactions faussement positives car le TTL n'a pas été réalisé systématiquement.

• Interprétation.

Essayons de comprendre pourquoi deux tests qui ont à priori le même but présentent certaines divergences, pourquoi les résultats de l'IDR à la PHA sont parfois en désaccord avec la réalité de l'état immunitaire du sujet.
Nous avions déjà, en page 15 , comparé les modes d'action de la PHA in vivo et in vitro et avions conclu qu'il serait logique de voir apparaître certaines divergences, ce qui s'est effectivement réalisé.

. Cas où IDR positive et TTL négatif.

La PHA peut, in vivo, ne stimuler qu'un petit nombre de lymphocytes compétents, les autres étant pathologiques, qui vont alors libérer suffisamment de médiateurs chimiques de l'hypersensibilité retardée pour induire la réaction, secondairement amplifiée par le concours d'autres types cellulaires (macrophages), qui ne sont pas affectés par le déficit immunitaire.
Or, la plupart des lymphocytes étant pathologiques, le TTL, qui mesure uniquement la transformation blastique, sera donc nettement abaissé.
Ce type de réaction peut s'observer lors de déficit partiel de l'immunité cellulaire, lorsque les lymphocytes survivent mal en culture, lorsqu'il y a diminution des sites de fixation de la PHA à la surface des lymphocytes et enfin lorsque il ne reste plus que très peu de lymphocytes compétents : leucémie lymphoïde chronique de l'homme, sarcoïdose.
Or, les méthodes courantes de préparation des lymphocytes ne permettent pas de séparer lymphocytes normaux et pathologiques donc si une partie des cellules est anormale, le TTL est diminué, tandis que la fraction normale, même faible, peut entraîner un phénomène d'hypersensibilité retardée.

Une deuxième hypothèse suggère que la PHA pourrait agir comme un puissant agent sensibilisateur, capable d'induire une réaction d'hypersensibilité retardée normale même chez des patients immunodéficients .
Dans ces cas, l'IDR à un antigène microbien est aussi négative alors que de forts sensibilisants de contact peuvent donner des réactions positives.

. Cas où IDR négative et TTL positif

Plusieurs possibilités sont envisageables :
. Les lymphocytes sont incapables de libérer les médiateurs de l'hypersensibilité retardée tout en restant aptes à subir la transformation blastique. Ainsi dans la candidose chronique, le MIF n'est pas libéré.

Mais il conviendra alors de confirmer ou non cette hypothèse en pratiquant le test de migration des leucocytes.

Les macrophages peuvent être atteints d'une prolifération virale (rubéole congénitale) alors que les lymphocytes sont épargnés. Ils ne participent donc pas à la réaction cutanée.
Par contre le test in vitro n'est nullement affecté.

. Enfin, il peut tout simplement s'agir d'une anomalie de la réponse inflammatoire et non immunologique qu'il faudra vérifier à l'aide d'irritants tels l'huile de Croton ou un soluté salé hypertonique.

I.2.2.3.- Discussion.

L'étude de l'originalité théorique de l'IDR à la PHA nous avait permis de supposer les qualités de ce test. Sont-elles confirmées après l'étude pratique ?
Il s'agit, en fait, d'une méthode :

- Facile à utiliser
La mise en oeuvre et la lecture sont très faciles. Nous avons noté une corrélation entre la dose injectée et le pourcentage de réactions positives et aussi avec le diamètre de celles-ci et ce, quel que soit l'âge sauf aux extrémités.
Son coût est faible.
Elle permet une économie de prélèvements sanguins nécessaires pour les tests in vitro, ce qui est appréciable chez les nouveaux-nés.

- Applicable dans tous les cas, donc rapide.
Elle ne nécessite pas de contact préalable avec un agent sensibilisateur (allergène microbien, DNCB), ce qui permet :
  •un pourcentage de réponses interprétables nettement supérieur aux réponses aux allergènes microbiens surtout chez les jeunes sujets
  •un réponse immédiate en 36 heures, plus précoce que celle à un allergène microbien (72 heures) à fortiori quand une présensibilisation du sujet est obligatoire (3 semaines).
D'inocuité totale en raison de son absence d'antigénicité.
Reproductible sans danger, ce qui permet des contrôles successifs de l'état immunitaire.

- Fiable.
Malgré quelques divergences avec les autres tests de l'immunité cellulaire, surtout le TTL, le pourcentage de corrélation est très satisfaisant. De toutes façons, les contradictions ne sont qu'apparentes et sont dues au mode d'action différent sur certains points de la PHA in vivo et in vitro évoqués précédemment; elles sont explicables le plus souvent par la réalisation d'au-

tres tests : TML, test de la réponse inflammatoire.

L'IDR à la PHA se situe donc parmi les tests de l'immunité à médiation cellulaire, mais ne saurait en aucun cas remplacer les autres, chacun ayant son mécanisme propre et explorant seulement une partie de la réponse cellulaire, mais tous pouvant se compléter.
Sa facilité d'utilisation, liée aux autres avantages doit lui permettre de figurer parmi les examens courants pratiqués en clientèle. Ainsi, il deviendrait possible de dépister ou confirmer une immunodéficience cellulaire, de suivre son évolution, de surveiller une thérapeutique immunostimulante ou immunodépressive, et d'avoir des informations complémentaires pour établir le pronostic d'une affection.

II - DANS DIFFERENTS CAS DE DEPRESSION DE L'IMMUNITE CELLULAIRE.-

Nous envisagerons dans cette partie, les applications pratiques de l'IDR à la PHA sous deux angles différents afin de mieux schématiser son intérêt. Le principe, bien sûr, reste inchangé et consiste à évaluer les capacités de l'immunité cellulaire. Mais le but diffère selon que l'on intervient avant ou pendant la phase proprement clinique. Avant la manifestation clinique de l'immunodéficience, l'IDR à la PHA aura pour but un dépistage précoce ; pendant la phase clinique, elle permettra de suivre l'évolution du déficit immunitaire et donc au praticien d'étayer son pronostic.

Nous utiliserons pour cela les résultats de travaux effectués chez les animaux domestiques et aussi quelques-uns chez l'homme en raison de leur caractère extrapolable aux espèces animales : état cancéreux, état post-opératoire.

II.1.- L'IDR à la PHA : moyen de dépistage précoce d'une immuno-déficience cellulaire.-

Il s'agira ici des cas où l'immunodéficience précède l'apparition clinique de la maladie.

II.1.1.- L'immunodéficience primaire de type combiné chez les poulains de race Arabe.

De nombreuses études (24), (36),(40),(41),(42),(46), ont permis de constater, chez les poulains de race Arabe, uniquement, une immunodéficience combinée primaire. Mâles et femelles sont atteints indistinctement et la mort intervient toujours avant l'âge de 5 mois, sauf dans les cas de greffe de moëlle osseuse ou de transplantation de thymus foetal, suite à une infection virale induite par l'immunodéficience,compliquée à son tour d'une infection bactérienne.
Ces observations autorisent à supposer une origine génétique dont le support serait un gène autosomal recessif.

La proportion de poulains atteints (2 à 3%) est suffisamment élevée pour justifier une étude approfondie des désordres immunitaires de ces animaux, les évaluer, et prouver que leur origine est bien primaire et non induite par l'infection virale, et ensuite organiser un dépistage systématique.

II.1.1.1.- Matériel et méthodes.

- Animaux.
Les animaux choisis sont des poulains et des adultes cliniquement

malades présentant des symptômes respiratoires et digestifs. Des tests immunitaires ont été pratiqués pour reconnaître les immunodéficients et parallèlement leur état clinique a été suivi durant toute la période expérimentale.

- Les tests pratiqués.

Puisqu'il s'agit de rechercher un déficit combiné, deux types de tests ont été réalisés qui sont indissociables.

* Les tests de l'immunité humorale.

• Dosage des immunoglobulines.

Les quantités d'IgM, d'IgA, IgG sont déterminées dans le sérum par immunodiffusion radiale et exprimées en mg pour 100 ml. LEW (36) a aussi apprécié la stimulation antigénique par le phage X 174, en dosant par séroneutralisation les anticorps anti-Phage.

• Exploration spécifique des lymphocytes B

Deux moyens ont été utilisés :

la recherche par immunofluorescence des immunoglobulines de membrane

le test des rosettes avec le complexe E.A.C.

* Les tests de l'immunité cellulaire.

• Exploration spécifique des lymphocytes T.

Parallèlement au TTL qui demeure l'examen de base ont été pratiquées des biopsies d'organes lymphoïdes tels le thymus et des numérations de lymphocytes du sang circulant.

• Phénomènes d'hypersensibilité retardée cutanée.

Différents révélateurs ont été utilisés parmi lesquels :

. Le D.N.C.B.

HODGIN (24) a pratiqué une sensibilisation par apposition quotidienne pendant 5 jours de doses variant de 1 à 10 mg de DNCB dans 0,2 ml d'un soluté composé de 10% DMSO et 90% d'ethanol. Ensuite, une dose de révélation de 0,4 mg s'est révélée comporter le moins de désagréments. La réaction a été mesurée et biopsiée.

LEW (36) a appliqué une dose de 0,2 mg de DNCB dans 0,1 ml d'acétone 2 fois à 10 jours d'intervalle. Une biopsie a été réalisée le 14ème jour.

. La PHA.

Des doses variables selon les auteurs ont été utilisées afin de déterminer les critères d'une réaction optimale : 1 à 100 µg (24), 5 à 36 µg (41), 50 µg (36).

L'injection d'un volume de 0,05 à 0,1 ml est pratiquée sur la face latérale de l'encolure après nettoyage et désinfection. La lec-

ture est effectuée 24 heures après.
Une injection témoin de sérum physiologique a été effectuée en même temps.
La mesure de l'augmentation d'épaisseur de la peau a permis de quantifier ce phénomène.
Notons que certains auteurs ont aussi utilisé la concanavaline.

• Greffe de peau.
Il s'agit (36) d'une greffe de peau de mouton réalisée au niveau de la fesse du poulain. Le 10ème jour, la greffe et ses tissus voisins sont biopsiés.

II.1.1.2.- Résultats.

- Tests de l'immunité humorale.

* Dosage des immunoglobulines.
L'étude de McGUIRE (40) est sur ce point la plus complète.
Le taux d'Ig dépend de l'âge du poulain. Le foetus, dès la 25ème semaine est capable de produire des Ig M et peut-être des petites quantités d'Ig G. Le collostrum de la mère apporte toutes les catégories d'Ig. Ces anticorps maternels sont ensuite catabolisés par le nouveau-né. La demi-vie des Ig M est la plus brève, puis celle des Ig A puis des Ig G. Deux méthodes sont possibles pour estimer les capacités de synthèse propres du poulain sans être géné par la présence des anticorps maternels.
. dosage des Ig M dès la naissance, avant la prise du collostrum
. dosage après le 30ème jour des Ig M et Ig A, période à partir de laquelle ces Ig maternelles ont disparu ou presque.

Parmi les 30 poulains malades testés à l'âge minimum d'un mois, 10 révèlèrent un déficit très net du taux d'Ig M et d'Ig A en général inférieur à 2 mg pour 100 ml, le taux d'Ig G étant plus élevé. Ces 10 poulains, atteints d'affections pulmonaires et digestives associées ou non moururent tous par la suite malgré un traitement symptomatique et anti-infectieux qui parvint par contre à sauver tous les autres.
De plus, chez deux poulains apparemment sains, des désordres semblables furent observés et quelques jours plus tard, ils présentèrent les mêmes symptômes fatals que les autres. Dans ces deux cas, des dosages avaient en effet été réalisés dès la naissance avant puis après la prise du collostrum. Voici leurs résultats :

		Ig M mg/100 ml		Ig A mg/100 ml		Ig G mg/100 ml	
		Malades	Témoins	Malades	Témoins	Malades	Témoins
Déclaration clinique de la maladie →	Avant la prise de collostrum	0	non dosées	0	ND	0	ND
	18ème jour	15	28	10	21	520	814
	36ème jour	0	30	6	17	396	480
	58ème jour	0	42	5	25	96	252

Les résultats apportent la preuve d'une déficience primaire de la synthèse des immunoglobulines. La seule connaissance de résultats chez des animaux déjà malades pourrait laisser supposer une déficience induite par la maladie, mais aucune maladie virale n'est capable d'entraîner de tels déficits. De même, après stimulation par le phage, le taux d'anticorps chez les animaux témoins (titre 1/1074) est nettement supérieur à celui des animaux immunodéficients (1/20).

* Exploration spécifique des lymphocytes B.

Ici encore, la différence avec des animaux témoins de même âge est hautement significative.

	Pourcentage de cellules formant des rosettes	Pourcentage de cellules portant des Ig de surface
Témoins	11,8 %	13,6%
Malades immunodécients	1,12%	0,12%

- Tests de l'immunité cellulaire.

* Exploration spécifique des lymphocytes T

• Numération lymphocytaire.

Comparant la formule leucocytaire des poulains témoins et malades, Mc GUIRE (40) trouve une différence très significative concernant la numération lymphocytaire.

	Témoins	Malades immunodéficients
Leucocytes/mm3	9551 ± 2456	6.716
Lymphocytes/mm3	4119 ± 1649	447
Neutrophiles/mm3	5007 ± 2101	5.887
Monocytes/mm3	296 ± 275	322

Chez les deux poulains évoqués précédemment, le nombre de lymphocytes s'est révélé très faible dès la naissance et est resté inchangé jusqu'à la mort de ces animaux, preuve d'un déficit primaire.
Ici encore, aucune infection virale n'est capable seule, d'entraîner une telle dépression.

Ces résultats recoupent ceux de LEW (36) :
310 ± 177 lymphocytes/mm3 chez les poulains immunodéficients
4.145 ± 1.443 lymphocytes/mm3 chez les témoins.

- TTL à la PHA et CONA

Il est difficile de comparer les résultats d'un auteur à l'autre puisqu'ils n'utilisent ni la même dose de lectine, ni la même concentration de lymphocytes en culture. Ce qui importe est le rapport entre l'index de stimulation témoin et l'index de stimulation des animaux immunodéficients.

	Index de stimulation			
	HODGIN (24)		Mc GUIRE (41)	
	PHA	Con A	PHA	Con A
Témoins	74 ± 25	63 ± 21	34,5	21,93
Immunodéficients	1,3 ± 0,6	0,9 ± 0,7	0,83	0,65
Témoins / Immunodéficients	57	70	42	34

Ces résultats mettent bien en relief la perte d'aptitude à la transformation blastique des lymphocytes des poulains immunodéficients et ce, de manière hautement significative ($p < 0,01$).

Ces données ont été confirmées par le TTL en présence d'antigène bactérien chez des poulains préalablement sensibilisés.

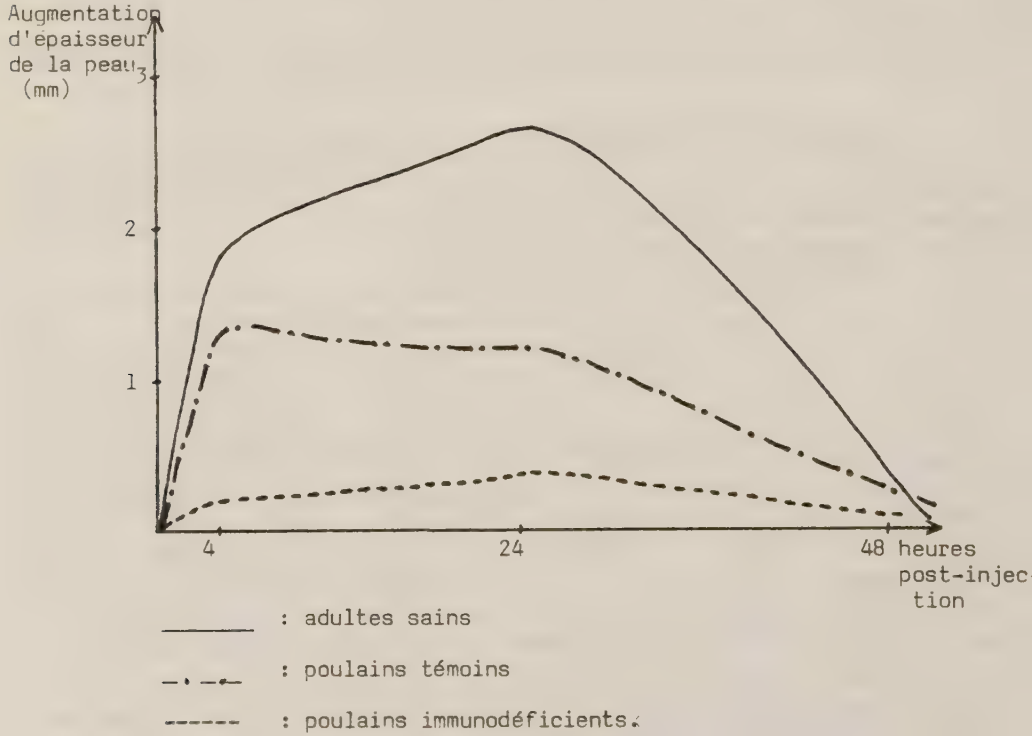
* Recherche d'un phénomène d'hypersensibilité cutanée retardée.

• L'IDR à la PHA.

Puisque dans la précédente partie concernant l'étude pratique de l'IDR à la PHA chez des témoins, nous n'avons pas mentionné les résultats chez les animaux en raison de la taille réduite des échantillons de référence, nous les développerons dans ce chapitre, mais en nous gardant de généraliser comme nous avions pu le faire chez l'homme.

. Etude chez les témoins.

L'étude cinétique de la réaction pour une dose de 50 µg, en fonction de l'âge montre des différences sensibles.
La réaction, d'abord molle et oedemateuse devient ensuite dure à 24 heures. Chez le poulain, elle est maximale 4 heures après l'injection mais reste importante à 24 heures puis diminue rapidement. Tandis que chez l'adulte, le pic n'est atteint qu'à 24 heures bien que le réaction soit nette dès la 4ème heure.



Une autre étude en fonction de la dose et de l'âge est résumée sur le tableau suivant (41).

Dose injectée		Augmentation épaisseur peau (mm)		Diamètre de l'induration (mm)	
		Adulte	Poulain	Adulte	Poulain
PHA µg	5	1,2		2,8	
	12	1,9		6,4	
	24	3	1,37	9,4	6,75
	36	2,2		15	
Con A µg	14	3		10	
	22	2,3		10	
	44	4	0,5*	29	*
	66	5		22	

* 1 seul poulain sur 4 a réagi.

La réponse cutanée est proportionnelle à la dose injectée. L'auteur a retenu les doses de 24 µg de PHA et 44 µg de ConA pour tester les poulains. Mais ceux-ci réagissent très mal à la ConA; il faut donc lui préférer la PHA à laquelle la réponse chez les poulains est inférieure à celle des adultes.
Les biopsies des sites d'injection sont caractéristiques de phénomènes d'hypersensibilité retardée.

. Etude chez les poulains immunodéficients.

Contrairement au taux d'immunoglobulines et au nombre de lymphocytes qui avaient pu être mesurés chez des poulains antérieurement à la déclaration de leur maladie, l'IDR à la PHA n'a pas été réalisée chez eux.
La réponse à la PHA est abaissée de manière hautement significative ($p < 0,001$) chez 100% des poulains malades.

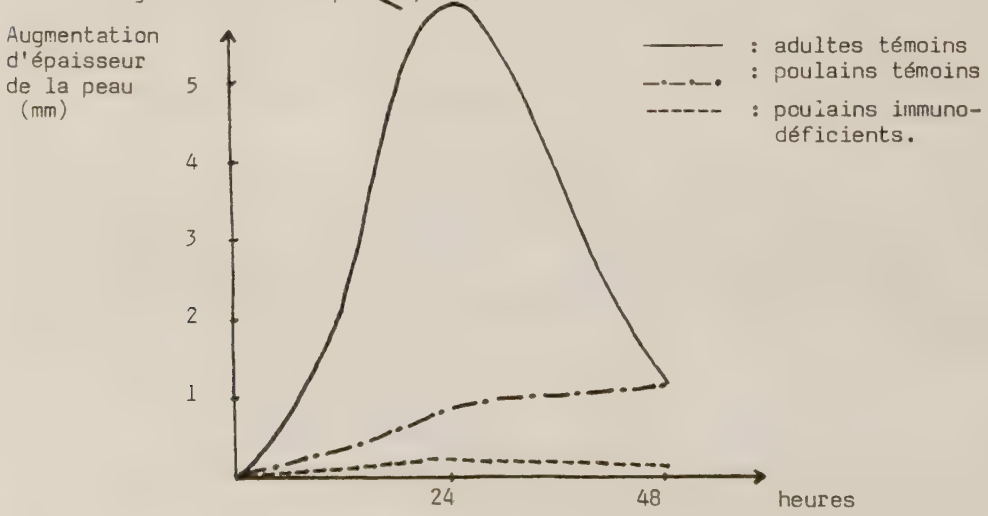
	Augmentation de l'épaisseur de la peau		
	Travaux de LEW (6) 50 µg PHA	Travaux de HODGIN (24) 50 µg PHA	Travaux de McGUIRE (41) 24 µg PHA
Poulains immunodéficients	0,125	0,5 ± 0,2	0
Témoins du même âge	1,82	1,3 ± 0,5	1,37

Les biopsies réalisées aux sites d'injection n'ont révélé qu'une très faible mobilisation de cellules spécifiques.

L'IDR à la PHA, mieux que l'IDR à la ConA permet de mettre en évidence de manière très fiable l'immunodéficience des poulains. Il est logique de supposer, puisque le déficit précède l'apparition des symptômes cliniques, que l'IDR à la PHA peut servir pour le dépistage précoce de cette maladie.

• La sensibilisation au D.N.C.B.

Les résultats de HODGIN sont les plus caractéristiques (24). Alors que les poulains sains sensibilisés développent une nette réaction 24 heures après l'application de la dose révélatrice histologiquement semblable à une réaction d'hypersensibilité retardée, par contre cette réaction est presque inexistante chez les poulains malades ou non sensibilisés. La différence est hautement significative ($p < 0,005$).



Les autres auteurs n'ont pu tirer systématiquement de conclusions de leurs tests ; la variation des résultats est due aux différents processus de sensibilisation.
Cette méthode est donc d'un emploi très délicat, toutefois, correctement appliquée, elle se révèle fiable.

* Rejet d'une greffe de peau.

Chez les poulains sains, la greffe, après s'être soulevée dès le 3ème jour exsude et se recouvre d'une croûte avant de se décolorer.
L'histologie montre une nécrose du greffon et, chez le greffé, une réaction du derme avec infiltration de cellules inflammatoires et de très nombreux lymphocytes.
Par contre, chez les poulains immunodéficients, la greffe apparaît sèche, sans croûte ni décoloration. L'histologie des tissus sous-jacents du greffé révèle une réaction cellulaire uniquement à base de neutrophiles qui ensuite infiltrent le greffon.
L'absence de mobilisation lymphocytaire dans ce phénomène, qui pourtant est basé sur l'activité de ces cellules, signe donc un déficit de l'immunité cellulaire.

- Résultats nécropsiques.

Outre l'état de misère physiologique des poulains, les découvertes sont notables :

* Au plan immunologique.

Le thymus est hypoplasique, d'un poids moyen 20 fois inférieur à la normale. Il est composé à 90% de cellules adipeuses.
Les lymphocytes sont très rares, de même qu'au niveau des ganglions et des autres formations lymphoïdes telles que la rate où les aires périartériolaires, normalement composées de lymphocytes T, ont disparu.

* Au plan microbiologique et anatomopathologique.

Dans la majorité des cas, on peut noter des lésions de pneumonie à adénovirus associée à une bronchopneumonie suppurative.
Cette surinfection bactérienne est secondaire à l'envahissement viral.
D'autre part, les lésions d'entérite sont assez fréquentes; un cas de nécrose hépatique avec abcès a aussi été noté.

Ces résultats nécropsiques, à eux seuls, posent le problème de cette maladie, à savoir la dualité entre l'immunodéficience et l'infection virale. Nous conclurons sur ce thème.

II.1.1.3.- Discussion.

Nous avons précédemment rapporté les résultats de tests variés, il s'agit maintenant de les recouper entre eux et de tirer des conclusions, quant à la nature de la maladie et quant à l'utilisation possible de l'IDR à la PHA en tant que test de dépistage.

- Nature de la maladie.
Il découle de l'ensemble des examens pratiqués la mise en évidence d'une sévère immunodéficience combinée mais aussi d'une infection virale permanente et importante.
Lorsque l'on sait que d'une part les virus entraînent une immunodépression cellulaire et que d'autre part, une immunodépression fait le lit des infections virales, il est permis de se demander lequel des phénomènes précède l'autre.
Certains résultats nous montrent qu'une immunodéficience combinée existait bien avant l'apparition des symptômes : absence d'immunoglobulines, lymphopénie dès la naissance, hypoplasie et non atrophie du thymus. De plus, tous les auteurs s'accordent à dire qu'aucune maladie virale n'est capable d'entraîner une telle lymphopénie.

Il est donc logique de conclure (40) que l'immunodéficience est primaire, d'origine génétique. Elle est à l'origine d'une infection par des adénovirus, virus très courants, à l'état latent chez presque tous les chevaux sains. L'invasion bactérienne consécutive est suivie par la mort de l'animal, malgré les traitements classiques qui devraient normalement réussir chez des sujets immunocompétents.

- Intérêt de l'IDR à la PHA.
Nous avons pu apprécier sa fiabilité, son excellente corrélation avec les autres tests de l'immunité cellulaire mais aussi sa facilité d'emploi par rapport aux autres tests pratiqués in vivo.
Bien qu'aucun auteur ne l'ait utilisée avant l'apparition des signes cliniques, on peut supposer qu'elle se révèlerait aussi fiable à cette période puisque le déficit immunitaire est déjà bien installé.
Associée à un test rapide de l'immunité humorale - dosage des Ig M avant la prise de collostrum - elle devrait permettre, par une utilisation intensive un dépistage dès la naissance de ce syndrome. C'est à ce niveau que tout l'effort doit porter et non après où elle ne permettrait que de suivre la dégradation des facultés immunitaires sans aucun recours thérapeutique possible.
En raison de la fréquence et de la gravité de cette maladie du poulain de race Arabe, ce mode d'emploi simple de la PHA doit l'imposer comme test de dépistage systématique, ce qui permettrait :
. d'économiser un traitement classique et, selon le cas, de tenter une restauration de l'immunité par une greffe de moëlle osseuse ou de thymus, donc de gagner un temps précieux avant que l'évolution ne devienne fatale.
. mais aussi de modifier sans tarder les programmes de reproduction.

II.1.2.- La démodécie.-

La démodécie du chien est toujours associée à la présence de Demodex canis, dans les follicules pileux ; mais on trouve ces Demodex dans la peau de très nombreux chiens sains. On peut donc

les considérer comme des symbiotes de la peau, dont la présence ne devient pathologique que sous l'effet de certains facteurs qui permettent une multiplication excessive des parasites et leur envahissement. Les jeunes chiens sont presque exclusivement atteints.
De nombreux facteurs étiologiques ont été invoqués, parmi lesquels la sous-nutrition, les modifications physiologiques ou métaboliques, les facteurs génétiques, le mauvais entretien de la peau. Par ailleurs, les thérapeutiques classiques donnent souvent des résultats décevants.
Pour ces raisons, HEALEY (22) suggère que le déclenchement de la démodécie est du à un déficit de l'immunité cellulaire. Nous étudierons d'abord les conséquences d'un déficit provoqué artificiellement chez les chiots sains porteurs de Demodex canis et d'après ces résultats nous montrerons l'intérêt de l'IDR à la PHA.

II.1.2.1.- Démodécie et immunodéficience cellulaire.

- Matériel et méthodes.

* 1ère expérience.
Des chiots sains sont divisés en deux groupes :
Ceux du groupe A sont mis en contact avec Demodex canis.
. le sous-groupe A1 reçoit pendant 16 semaines 3 injections hebdomadaires de sérum anti-lymphocytaire canin à la dose de 1,5 ml par kg de poids vif.
. le sous-groupe A2 n'en reçoit pas.

Ceux du groupe B ne sont pas infectés par Demodex canis.
. le sous-groupe B1 seul est traité de la même façon avec le sérum anti-lymphocytaire que A1. Le sous-groupe B2 n'en reçoit pas.

* 2ème expérience.
Elle se superpose à la précédente avec les sous-groupes suivants: C1, C2, D1, D2.
. le groupe C est seul infecté par Demodex canis.
. les sous-groupes C1, D1 reçoivent le sérum anti-lymphocytaire mais pendant onze semaines seulement

- Résultats
. Une forme squameuse de démodécie généralisée se développe vers la 8ème semaine chez les seuls chiots A1 et C1, ayant été à la fois infestés par les Demodex et traités par le sérum anti-lymphocytaire, tandis que les chiots A2 et C2, ayant seulement été infestés par les Demodex, ne présentent aucune lésion.

Parallèlement à ces observations cliniques, une numération lymphocytaire a été pratiquée, dont voici les résultats moyens :

	A1	A2	B1	B2
% lymphocytes	19,5	40,6	16	44,7
% Monocytes	5,1	4,8	4	5,1
% neutrophiles	72,6	52,8	77,9	50
% eosinophiles	3,1	2,1	2,1	1

Donc, une lymphopénie très nette existe dans les sous-groupes A1 et B1 traités avec le sérum anti-lymphocytaire. Aucune différence significative n'existe entre les sous-groupes A1 et B1, entre A2 et B2. Par contre, une différence hautement significative ($p < 0,001$) existe entre les sous-groupes ayant reçu le sérum anti-lymphocytaire (B1 et A1) et ceux n'en ayant pas reçu (A2 et B2).

Le déficit de l'immunité cellulaire dont témoigne la lymphopénie est seulement du au sérum anti-lymphocytaire et est indépendant de l'infestation par les Demodex.

. Les résultats de la deuxième expérience ne sont pas totalement en accord avec les précédents. Bien que la démodécie n'apparaisse que chez les chiots C1, la lymphopénie est non seulement constatée pour C1 et D1, mais aussi, à un degré moindre dans le sous-groupe C2 où les chiots, infestés par Demodex n'ont pourtant pas reçu de sérum anti-lymphocytaire.
Il existe en effet, contrairement à l'expérience précédente une différence significative entre C2 et D2 ($p < 0,001$).
Les Demodex auraient aussi un effet immunodépresseur propre mais insuffisant pour déclencher à eux seuls une démodécie clinique. Lestravaux de HIRSH (23) donnent un certain crédit à cette hypothèse. Il a réalisé des tests de transformation lymphoblastique avec des lymphocytes d'animaux normaux et démodéciques en présence, soit de sérum normal soit de sérum de démodécique.
Il note :

- aucune différence significative, en présence de sérum normal ; que les chiens soient ou non démodéciques, leurs lymphocytes sont normalement stimulés
- aucune différence significative, en présence de sérum de démodéciques ; que les chiens soient ou non démodéciques, leurs lymphocytes sont très peu stimulés.
- une différence hautement significative ($p < 0,01$) selon que le sérum est issu de chiens démodéciques ou non, quelle que soit l'origine des lymphocytes.

Il en déduit donc la présence d'un facteur sérique induit par les Demodex, bien qu'il n'ait jamais pu être isolé. Ce facteur inhiberait la transformation blastique en général.

- Discussion.

Le système de l'immunité cellulaire du chien exerce une fonction de mécanisme de défense contre l'établissement et la prolifération de Demodex canis. La dépression de ce système serait un préalable obligatoire au déclenchement de la phase clinique de la démodécie. Cette immunodépression primaire pourrait ensuite être aggravée par la présence massive des Demodex qui seraient à l'origine d'un facteur sérique immunodépresseur.
Connaissant ces données de base, il devient intéressant d'utiliser l'IDR à la PHA à deux niveaux :

* en dépistage précoce d'un déficit de l'immunité cellulaire primaire
* en cours d'évolution de la maladie dans un but de pronostic.

II.1.2.2.- L'IDR à la PHA, moyen de dépistage précoce d'une immunodépression cellulaire primaire.

- Matériel et méthodes.

* Cadre de l'étude.

WILKIE (62) a choisi un élevage de race Doberman, de forte consanguinité où la démodécie est un véritable fléau atteignant tous les chiots dès l'âge de 12 semaines et se révèle rebelle à tout traitement. Les adultes ne sont pas affectés de même que des portées voisines de chiots de race différente pourtant en contact permanent avec les chiots Doberman.

* Tests pratiqués.

Il décide de tester leur immunité cellulaire au moyen de l'IDR à la PHA : 50 µg de PHA dans 0,1 ml et lecture 24 à 48 heures après par mesure de l'augmentation d'épaisseur de la peau.
Les tests sont pratiqués :

. sur des chiots Doberman, bien avant la 12ème semaine, avant donc l'apparition de lésions démodéciques.A.
. sur des Doberman adultes ascendants directs .B.
. sur des chiots de race différente .C.
. sur des adultes de race différente.D.

- Résultats.

La réponse est maximale 24 heures après injection.
La mesure du pourcentage d'augmentation d'épaisseur de la peau donne les résultats suivants :

A : 23,88 ± 2,46% } différence hautement significative
C : 67,7 ± 3,16% } $p < 0,001$

B : 56,54 ± 2,68% } pas de différence significative
D : 65,6 ± 7,7 % } $p > 0,4$

A : } différence hautement significative
B : } $p < 0,001$

- Discussion

Par comparaison avec des chiots de même âge mais de race différente, et aussi avec leurs parents, il a été démontré un net déficit de la réponse à la PHA in vivo chez ces chiots Doberman, avant les manifestations cliniques de démodécie ; ces résultats sont bien en rapport avec ceux consécutifs à l'administration de sérum anti-lymphocytaire. L'immunodéficience cellulaire est un facteur déclenchant de la démodécie.

L'IDR à la PHA semble être un test approprié pour dépister les déficits immunitaires dans les élevages où sévit la démodécie, et devrait permettre la mise en oeuvre d'un changement dans le programme de reproduction si l'origine est génétique et l'administration précoce d'une thérapeutique immunostimulante.

II.1.2.3.- L'IDR à la PHA et la restauration immunitaire.

Si ce test trouve une excellente application dans le dépistage précoce de l'immunodéficience, il paraît intéressant de l'utiliser pour tester les capacités immunitaires en cours d'évolution de la maladie. L'IDR à la PHA a donc été pratiquée chez des animaux en phase clinique et après guérison de la démodécie (22).

- Résultats.

Alors que ce phénomène n'est que rarement mentionné dans les autres travaux, HEALEY a aussi remarqué l'existence d'un phénomène d'hypersensibilité immédiate.

* La réponse immédiate

Tous les chiens, démodéciques et témoins développent une réponse immédiate à la PHA et à la Con A à des doses de 10 µg.
Erythème et oedème deviennent évidents 5 minutes après l'injection et maxima entre 15 et 30 minutes pour disparaître ensuite en 4 heures.
Quinze minutes après l'injection, la réaction est significativement supérieure chez les chiens démodéciques ($p < 0,05$).
L'injection de sérum physiologique n'entraîne aucune réaction.

* La réponse retardée.

L'intensité de l'érythème et de l'induration est maximale à 24 heures.
La réponse est significativement plus faible chez les chiens démodéciques ($p < 0,05$) et redevient normale après guérison.

	TEMOINS		DEMODECIQUES	
	%réponses positives	diamètre induration mm	% réponses positives	diamètre induration mm
Réponse à 24 h	100	10,3	62	5,6
Réponse à 48 h	87	9,1	0	0

- Discussion.

La PHA est capable d'induire in vivo une libération d'histamine à partir des mastocytes et polynucléaires basophiles, due à la présence d'Ig E spécifiques liées à ces cellules. La réaction supérieure chez les chiens démodéciques laisse supposer que leur peau est plus riche en mastocytes et basophiles.

La diminution caractéristique de la réponse retardée à la PHA signe une persistance de l'immunodéficience chez les chiens démodéciques qui ne cessera qu'à l'issue de la guérison. Un test en voie de positivation permet donc au praticien de pronostiquer une guérison proche.

II.1.3.- Conclusion.-

Par sa fiabilité et sa simplicité d'emploi, l'IDR à la PHA s'est révélée être un moyen pratique et rapide de dépistage d'immunodéficience cellulaire, à un stade où les complications ne sont pas encore apparues. Le clinicien possédant ces données peut donc prendre immédiatement toutes les précautions qui s'imposent pour essayer de limiter les conséquences pathologiques; l'éleveur quant à lui, en cas d'origine génétique, modifiera sans tarder son programme de sélection.

Ces immunodéficiences peuvent faire le lit, soit d'une parasitose (démodécie), soit d'une maladie virale (adénovirose du poulain Arabe). KRAKOWKA, (30), a démontré que les chiots immunodéficients étaient plus souvent sujets à développer la maladie de Carré.

Le domaine d'emploi est donc vaste, l'IDR à la PHA, en détectant rapidement une immunodéficience, exprime ainsi l'urgence d'une restauration, ce qui est la meilleure des prophylaxies pour certaines maladies fatales.

II.2.- L'IDR à la PHA, moyen de pronostic précoce lors d'immunodéficience cellulaire.

Il s'agira ici de rechercher une corrélation entre la réponse à la PHA in vivo et l'évolution de certaines maladies immunodéficientes.

II.2.1.- Dans les maladies virales.

II.2.1.1- Maladies virales et immunodéficience cellulaire.

Si un état immunodéficient favorise l'infection virale, de nombreuses études ont aussi démontré l'effet immunodépresseur propre des virus et l'importance déterminante de la restauration del'immunité cellulaire pour la guérison. Cet effet dépresseur semble du à la faculté du virus de replication au niveau des lymphocytes et de destruction des formations lymphoïdes entrainant leur atrophie (39).
Il n'est toutefois pas possible de généraliser à toutes les infections virales ; de plus, la dépression immunitaire est plus ou moins marquée selon les stades ou la gravité de l'infection. Par exemple, chez les chevaux atteints d'anémie infectieuse (3) même en phase aiguë, la réponse des lymphocytes in vitro est sensiblement égale à celle obtenue chez les témoins.

Dans cette partie, nous ne nous attacherons pas seulement à prouver l'état d'immunodéficience, mais plutôt, grâce à une étude cinétique, à rechercher une corrélation entre les capacités immunitaires du malade et son aptitude à la guérison.

La maladie de Carré semble être un sujet de choix pour plusieurs raisons :

- la ressemblance du virus de la maladie de Carré avec celui de la rougeole humaine a permis aux auteurs de s'inspirer des travaux déjà réalisés chez l'homme.

- c'est une maladie très fréquente chez le chiot et devant laquelle le praticien est désarmé, au moins au début pour émettre un pronostic.

II.2.1.2.- L'IDR à la PHA et le pronostic dans la maladie de Carré.

- Matériel et méthodes.

* Animaux.
Tous les chiens utilisés pour ces expériences (31)(32)(39) sont nés par hystérotomie,n'ont pas reçu de collostrum et ont été élevés en atmosphère stérile.

Une partie d'entre eux est inoculée avec la souche R252 du virus de la maladie de Carré ; quant aux autres chiens, ils sont soit mis en contact avec les chiens inoculés, soit pris pour témoins.

* Tests pratiqués.

L'exploration spécifique des lymphocytes T est réalisée grâce à la numération lymphocytaire et au test de transformation lymphoblastique.
Par ailleurs, les biopsies de formations lymphoïdes ont aussi été pratiquées.

Des phénomènes d'hypersensibilité cutanée retardée ont été recherchés par injection intradermique de PHA et de ConA.

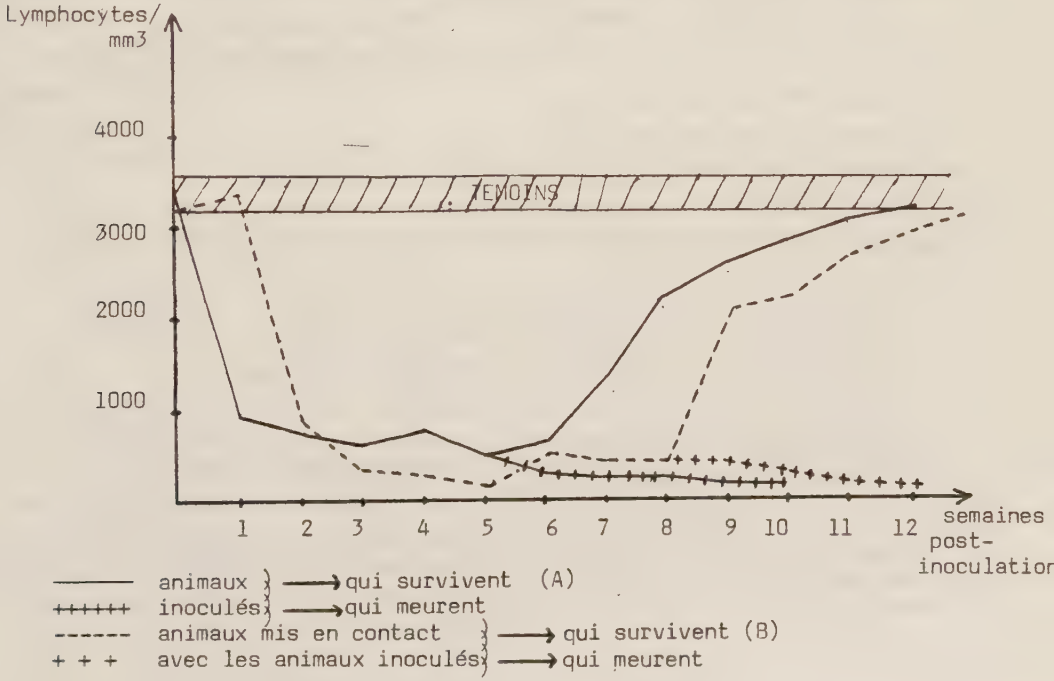
Des greffes de peau ont été pratiquées 14 jours après l'inoculation virale. Les critères de rejet pris en considération sont le changement de couleur du greffon (de rose à violet), sa perte de souplesse et l'analyse histologique.

- Résultats

* Exploration spécifique des lymphocytes T.

• Numération lymphocytaire.

Les résultats moyens sont représentés dans la courbe ci-dessous:

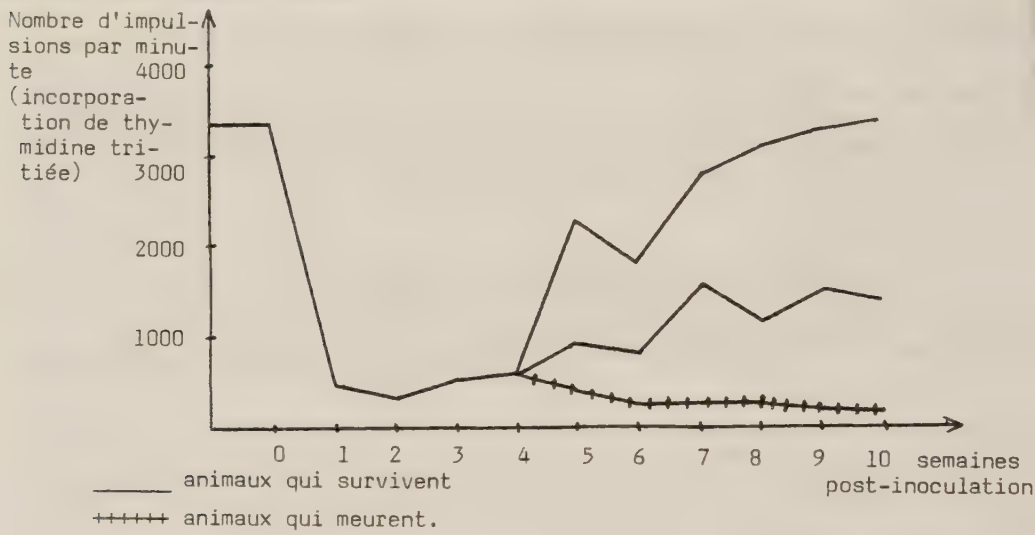


Les animaux mis en contact avec ceux inoculés présentent les mêmes symptomes qu'eux, avec une semaine de décalage.

Le nombre de lymphocytes est diminué significativement ($p < 0,005$) de la lère à la 7ème semaine (A), de la 2ème à la 8ème semaine (B), chez les chiens survivants alors qu'il reste fortement diminué, chez les animaux qui vont succomber.

• Test de transformation lymphoblastique.

Ici encore, une étude cinétique permet de mieux comprendre les variations immunitaires.



La stimulation des lymphocytes par la PHA diminue une semaine après l'inoculation ce qui coïncide avec l'apparition de la lymphopénie et des inclusions virales dans les leucocytes. Elle reste très basse chez les chiens dont l'issue sera fatale ; par contre chez ceux dont l'issue sera favorable, la réponse tend vers la normale à partir de la 5ème semaine après inoculation chez certains et reste variable chez les autres.

Cet abaissement significatif du TTL est-il du tout simplement à la lymphopénie ou à un autre phénomène ?
On constate, chez les chiens qui meurent d'encéphalite aiguë un pourcentage élevé de lymphocytes porteurs d'inclusions virales, alors que celui-ci est variable, voire nul dès la 3ème semaine chez les autres chiens. Les modifications de la réponse à la PHA semblent donc dues, en plus de la lymphopénie à l'action directe du virus sur les lymphocytes, inhibant leurs capacités de transformation.

• Biopsies du thymus.

L'auteur a séparé les chiens en 3 groupes :

I : animaux qui meurent, avec des lésions nerveuses
II : animaux qui survivent, avec les lésions nerveuses
III : animaux qui survivent, sans lésions nerveuses.

Macroscopiquement, l'identification a été impossible chez 78% d'animaux du groupe I et 40% du groupe II alors que dans le groupe III la taille était normale et dans certains cas augmentée.

Histologiquement, les lobules thymiques sont diminués dans le groupe I exclusivement, ils contiennent surtout des cellules réticulées mais très peu de lymphocytes, pour la plupart sous forme dégénérative.
Ces lésions sont typiques d'une atrophie thymique et non d'une hypoplasie. Cette atrophie, très fréquente chez les chiens dont l'issue sera fatale, suggère que ces animaux sont incapables de régénérer cet organe ou bien trop lentement.

* L'IDR à la PHA.

• Chez les témoins

KRAKOWKA (32) a injecté sous un volume de 0,1 ml des doses variables de PHA. La concentration optimale est de 150 µg par ml ; des concentrations supérieures, 1,5 mg et 15 mg par ml ont eu une action très irritante avec nécrose et suppuration locales, tandis que des concentrations inférieures, 15 µg et 1,5 µg par ml n'entraînaient pas de réaction visible.
Le pokeweed-mitogène a été aussi utilisé à la concentration de 100 µg par ml.

Les tableaux suivants nous permettent de comparer les réactions in vivo entre elles et avec le test de transformation lymphoblastique.

. Pourcentage de réponses positives en fonction de l'âge.

	1 semaine	6 à 16 semaines	adultes >52 semaines
PHA 150µg/ml	100%	100%	100%
PwM 100µg/ml	0%	33%	100%

Quel que soit leur âge, tous les chiens répondent à l'injection de PHA, par opposition au PwM auquel les jeunes sont anergiques, même à des doses plus importantes.

. Intensité de la réaction.

	P H A		P w M	
	in vivo diamètre induration et érythème mm	in vitro index de stimulation	in vivo diamètre induration et érythème mm	in vitro index de stimulation
Nouveaux-nés 1 semaine	8,33	31,3	0	28,5
Adultes	12,33	101	10	108,7

Les nouveaux-nés réagissent moins intensément que les adultes, ce qui confirme les résultats chez l'homme.
D'autre part, il existe une bonne corrélation entre la PHA in vivo et in vitro.
L'IDR à la PHA semble donc un test fiable de l'immunité cellulaire quel que soit l'âge des animaux testés.

• Chez les animaux atteints de maladie de Carré.
Alors que tous les chiens répondaient à la PHA avant infection, ils étaient tous négatifs 7 jours après.
Les chiens infectés fatalement, à une exception prés, restèrent tous négatifs jusqu'à leur mort qui survint entre le 10ème et le 42ème jour. Un seul donc se repositiva 2 semaines après infection mais il fut à nouveau négatif 8 jours plus tard et mourut 6 semaines après.

Au contraire, chez tous les chiens qui guérirent, la réponse redevint normale 14 à 21 jours après infection.

* Le rejet de greffe de peau.
Aucune rétention significative du greffon ne fut observée chez les chiens infectés sauf un seul animal qui eut un temps de survie de 17 jours et qui n'avait toujours pas manifesté de phénomènes de rejet. La durée de survie de la greffe, chez les autres, variait de 11 à 14 jours.

- Discussion.
La PHA est une lectine mieux adaptée que le PwM pour tester l'immunité cellulaire quelque soit l'âge des chiens. La bonne corrélation avec les autres tests prouve sa fiabilité.

Chez les animaux atteints de maladie de Carré, ce test est le seul à donner des résultats indiscutables et ce, dès la troisième semaine après l'infection. En effet, il faut attendre 8 se-

maines pour observer une augmentation du nombre de lymphocytes, 6 semaines pour une reprise de la réponse à la PHA in vitro dans certains cas seulement. Quant à la greffe de peau, test peu commode à pratiquer en clientèle, la dépression immunitaire semble insuffisante pour entraîner une augmentation du temps de rejet ; peut-être faudrait-il la pratiquer plus tôt après inoculation, ce que fit RIVARD qui constata une meilleure rétention de greffes de rein chez les chiens atteints de maladie de Carré. L'IDR à la PHA semble être le test le plus fiable pour aider le praticien à effectuer le plus précocément possible un pronostic dans le cas de maladie de Carré. Encore s'agit-il dans cette étude de conditions expérimentales où l'épidémiologie est parfaitement contrôlée. Il est nécessaire d'en tenir compte pour exploiter ces résultats dans l'exercice courant de la clientèle.

II.2.2.-En carcinologie.

II.2.2.1.- Immunodéficience et cancer.

- Hypersensibilité cutanée retardée et dépistage.

De récentes études ont permis de définir une méthode immunologique de diagnostic et pronostic du cancer, basée sur l'existence d'antigènes associés aux tumeurs. Ainsi, des patients atteints de cancer réagissent positivement, selon les mécanismes de l'hypersensibilité retardée, à l'injection intradermique d'extraits solubles de tumeurs de même type histologique et ce, soit dans les premiers stades de la maladie, soit en phase de rémission. Par contre, dans les stades plus avancés, l'anergie est de règle.

Reprenant cette idée, JACOBS (28) a pratiqué des injections intradermiques d'antigènes extraits de la membrane de cellules néoplasiques à des vaches atteintes de lymphosarcomes, dans un but de dépistage de la maladie.
Ces antigènes s'avérèrent impuissants à la détecter chez les vaches qui avaient atteint les derniers stades de la maladie.
Afin de déterminer si ces résultats négatifs sont dus à un manque de spécificité de l'antigène ou bien à un autre facteur, il pratique des injections intradermiques de PHA à ces animaux. La mesure du pourcentage d'accroissement d'épaisseur de la peau a permis de faire apparaître une différence hautement significative ($p < 0,01$) entre les animaux sains (+ 72%) et les animaux atteints de lymphosarcome avancé (+ 25%). Ces résultats, bien en corrélation avec ceux du TTL apportent la preuve que l'immunodéficience cellulaire est bien la cause de l'anergie aux antigènes tumoraux.
Si l'intradermoréaction aux antigènes tumoraux permet un diagnostic précoce de cancer, elle est par contre inefficace à un stade plus avancé et c'est à ce moment que l'IDR à la PHA permet de distinguer les animaux cancéreux des animaux sains.
Par contre, si le diagnostic de cancer est déjà fait, l'apparition de l'anergie aux antigènes tumoraux permet de donner le pro-

nostic ; nous rechercherons en deuxième partie si la PHA permet aussi cela, en se basant uniquement sur l'exploration des capacités immunitaires des sujets cancéreux.

- Limite de l'IDR à la PHA : la leucémie lymphoïde chronique de l'homme (LLC).

* Généralités.

Si l'IDR à la PHA paraît être le test de choix pour détecter l'état d'immunodéficience chez les patients cancéreux, il n'en va pas de même dans le cas particulier de la LLC ainsi que le prouve l'étude d'AIRO (1).

Le mécanisme du déficit immunitaire au cours de la LLC a été défini comme celui d'une maladie au cours de laquelle s'accumulent de façon chronique, les lymphocytes non compétents.

* Résultats

• TTL

Après une culture lymphocytaire de 3 jours en présence de PHA, le pourcentage de cellules blastiques s'élève à 64,5% ± 8,3% chez les sujets témoins contre 7,3 ± 5,4% chez les patients atteints de LLC.

• IDR à la tuberculine.

Toutes les réactions furent négatives chez les malades sauf dans un cas.

• IDR à la PHA.

La réaction est positive chez tous les sujets de l'expérience et semble même parfois plus importante chez les sujets atteints de LLC, bien que la différence par rapport aux témoins ne soit pas statistiquement significative. En outre, les réactions sont proportionnelles à la dose injectée.

	PHA 1 µg		PHA 10 µg	
	24 h	48 h	24 h	48 h
Diamètre érythème témoins mm	16,3 ± 6,9	8,7 ± 7,5	30,1 ± 7,7	19,2 ± 12,8
Diamètre érythème malades mm	22,4 ± 8,3	13,9 ± 9,3	38,4 ± 11,2	29,2 ± 16

* Discussion

Le TTL et l'IDR à la tuberculine confirment la dépression de l'immunité cellulaire existant dans la leucémie lymphoïde chronique, contrairement à l'IDR à la PHA.
Nous avons déjà, page 31 , envisagé diverses hypothèses pour expliquer ce phénomène : la PHA in vivo stimule le peu de lymphocytes compétents mais qui sont suffisamment nombreux pour permettre une réaction positive, ou bien, la PHA agit comme un puissant sensibilisateur. Les mêmes résultats se retrouvent dans la sarcoïdose.

Le principe et la fiabilité de l'IDR à la PHA ne doivent pas être remis en cause pour autant ; ce cas particulier nous montre bien ses limites. L'IDR à la PHA n'est qu'un test parmi les autres, plus simple certes, donc plus séduisant, mais avec certaines insuffisances, et non le nouveau test capable de se substituer aux précédents.

II.2.2.2.- L'IDR à la PHA et le pronostic en cancérologie.

VIALLAT et BOUTIN (58) ont choisi ce test pour définir l'état immunitaire de patients cancéreux.

- Matériel.

* Malades.

Il s'agit de 124 sujets témoins (NC) et de 235 patients cancéreux (K) subdivisés en deux groupes.

K1 : 160 sujets atteints de cancers évolués sous chimiothérapie palliative.

K2 : 75 sujets en convalescence après une cure satisfaisante de la néoplasie.

* Tests cutanés.

Sous un volume de 0,1 ml, trois injections ont été réalisées à chaque personne, à l'aide de PHA (1 µg), de tuberculine (10 U) de candidine (à la dilution 1%).
Est considérée comme positive à la PHA, une réaction cutanée dont le diamètre moyen de l'induration est supérieur à 5 mm à 24 heures.

- Résultats.

Le tableau ci-dessous permet de comparer le pourcentage de réactions positives selon les groupes de patients.

	NC	K1	K2
Tuberculine	58%	47%	67%
Candidine	47,5%	60%	-
PHA	88%	58,5%	95%

Il en découle que la PHA fournit un pourcentage de réponses positives nettement supérieur par rapport aux antigènes microbiens dans le groupe témoin.
La différence de réponses à la PHA entre K1 et NC est hautement significative ($p < 0,01$), contrairement à la différence entre K2 et NC, où les résultats sont comparables.
De plus, dans le groupe K1, les individus ayant au moins une réponse positive ont une durée de survie nettement supérieure (136 ± 11 jours) à celle des anergiques (38 ± 5 jours).

Nous pouvons rapprocher ces résultats de ceux de CATALONA (15) chez des personnes atteintes de tumeurs génito-urinaires malignes : une réponse abaissée du TTL à la PHA a été observée dans 42% des cas, et de la sensibilisation au DNCB dans 43,3% des cas.

- Discussion.
D'une part, l'IDR à la PHA confirme sa fiabilité par rapport aux antigènes microbiens, mais d'autre part, elle permet d'établir une bonne corrélation entre une réponse positive et l'issue favorable de la maladie ou du moins une survie prolongée des patients.

II.2.3.- En période post-opératoire.

II.2.3.1.- Etat post-opératoire et immunodéficience.

- But des travaux.
La fréquence et parfois la gravité des infections post-opératoires, l'apparente facilitation de la diffusion métastatique des cancers après une intervention pourraient être la conséquence d'une carence immunitaire induite, aggravée ou révélée par l'intervention chirurgicale. L'étude de certains paramètres de l'immunité paraît représenter un moyen d'approche nécessaire à l'interprétation des faits observés. Nous ne retiendrons de cette étude de VERMESSE (57) que ce qui concerne l'immunité cellulaire, appréciée grâce au TTL et à l'IDR à la tuberculine. Ces examens ont été pratiqués chez des malades ayant subi diverses interventions chirurgicales et ne présentant avant celles-ci aucun signe d'infection.

- Résultats.
La prolifération lymphocytaire induite par la PHA est sensiblement atténuée aux 3ème et 6ème jours après l'intervention pour l'ensemble des malades. L'IDR, pratiquée le 6ème jour post-opératoire s'est révélée négative dans 69% des cas, avec une plus forte proportion de réactions négatives chez les malades présentant des suites septiques (87% d'entre eux) que chez les autres (50% d'entre eux).

- Conclusion .
Ces résultats confirment l'existence d'un déficit de la réponse immunitaire en particulier cellulaire, dans les suites opératoi-

res immédiates, d'autant plus intense que cette période est marquée de complications septiques. L'IDR à la PHA, pourrait trouver ici un emploi très utile de dépistage de cette immunodéficience, ce qui permettrait de mieux surveiller les malades négatifs.

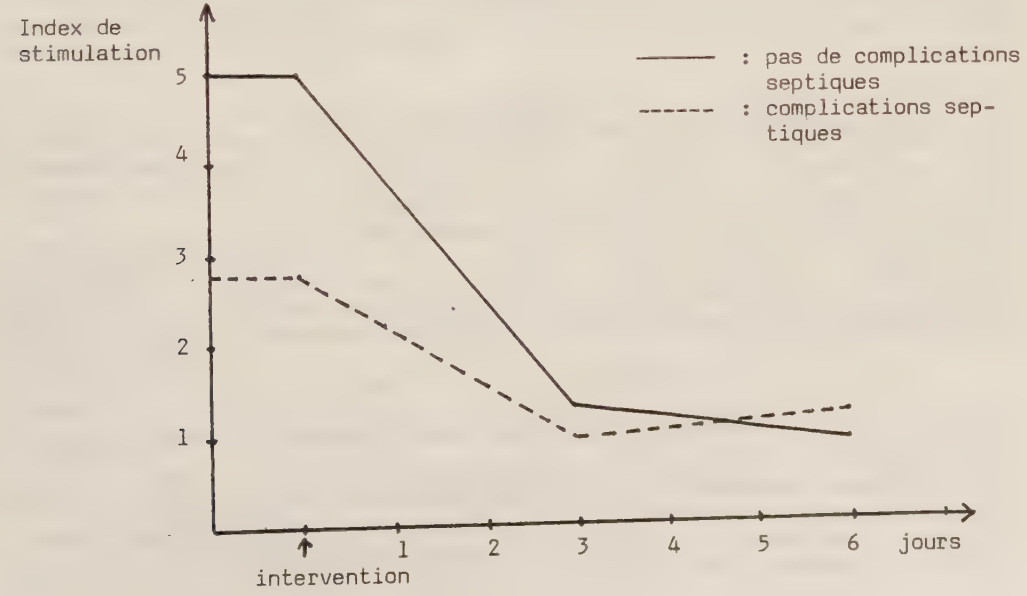
L'origine des désordres de la défense immunitaire est encore incomplètement établie ; la dénutrition, l'infection, le stress entrainent souvent une anergie, mais il semble que d'autres facteurs interviennent tels que des facteurs sériques.

II.2.3.2.- L'IDR à la PHA et le pronostic en période post-opératoire.

Afin de prévenir les complications infectieuses qui sont la principale cause de décès des patients en réanimation, particulièrement en période post-opératoire, l'accent a été mis tour à tour sur l'importance des mesures spécifiques d'hygiène hospitalière, sur une utilisation restrictive des antibiotiques et plus récemment sur l'amélioration des défenses immunitaires.

- Résultats des tests.

* En période préopératoire (57).
La réalisation d'un TTL la veille de l'opération a permis de détecter une baisse notable de la réponse lymphocytaire à la PHA chez les sujets dont les suites opératoires présenteraient des complications septiques. Après l'intervention, leurs résultats se superposent à ceux des autres patients.



* En période post-opératoire (20)
Des tests cutanés ont été réalisés 48 heures après intervention à l'aide d'antigènes : tuberculine, streptokinase, candidine, et de PHA (5 µg) dans un tiers des cas. Les auteurs ont recherché une relation entre les résultats de la réaction et le pourcentage de décès.
Pour les antigènes microbiens, ils ont considéré le malade réactif dès qu'un test au moins était positif ; 55% des anergiques sont décédés ; en revanche, seulement 19% des réactifs sont morts.

De même pour la PHA, le décès est survenu chez 62,5% des patients anergiques et seulement 25% des réactifs.

Par contre, il n'existe pas de différence significative entre la durée de survie des malades anergiques (11,7 jours) et des patients réactifs (16,2 jours).

Enfin, l'évolution de la réponse aux tests cutanés a pu être suivie chez 6 patients anergiques. Trois dont les tests sont restés négatifs sont morts, tandis que les 3 malades dont les tests se sont positivés, ont bien survécu.

- Discussion.
Les résultats du TTL nous montrent qu'un déficit immunitaire préexistant qu'aggrave ensuite l'opération favorise l'éclosion de complications infectieuses. Il serait intéressant de réaliser une IDR à la PHA avant les interventions chirurgicales ; le résultat étant obtenu plus rapidement que pour le TTL et dans l'hypothèse probable d'une corrélation entre ces deux tests, cela permettrait de prendre immédiatement des dispositions nécessaires pour prévenir l'infection dont on soupçonnerait ainsi l'apparition.

D'autre part, et bien qu'une étude plus approfondie soit nécessaire pour mieux comprendre le mécanisme, il ressort que l'IDR à la PHA apporte une information supplémentaire pour établir un pronostic sur les chances de survie à une opération délicate puisque l'anergie et la mortalité sont étroitement associées.
La détection par la pratique des tests cutanés à la PHA d'une population à haut risque devrait être aussi recherchée, en médecine vétérinaire. Ces observations permettraient de prendre, chez les animaux anergiques des mesures de précaution précoces telles qu'une thérapeutique immunostimulante, la prévention accrue des surinfections.

II.2.4.- Limites de l'IDR à la PHA moyen de pronostic.

Nous avons déjà, au cours des chapitres précédents, souligné l'incapacité dans certains cas de l'IDR à la PHA pour le diagnostic d'une immunodéficience cellulaire. Nous montrerons ici les limites de ce test pour le pronostic dans un cas précis de chevaux atteints de diarrhée chronique.

II.2.4.1.- Les animaux.

TARGOWSKI (53) a étudié l'état immunitaire de chevaux de races variées, dont aucun de race Arabe, ce qui supprime tout rapport possible avec l'immunodifience de type combiné qui atteint exclusivement cette race. Lorsque les chevaux sont soumis à ces examens, la diarrhée dure depuis quatre mois au minimum sous une forme sévère ou modérée mais toujours persistante, entraînant la cachexie et la mort à long terme. Les examens hématologiques, bactériologiques, parasitologiques et parfois nécropsiques n'ont jamais pu fournir une seule indication, les diverses thérapeutiques antibiotiques et symptomatiques ont été vaines.
Pour ces raisons, l'auteur envisage de réaliser un bilan immunitaire. Parallèlement, l'administration orale d'un litre de sérum équin trois jours de suite, renouvelée deux semaines plus tard, permit la guérison d'une grande partie des chevaux.

II.2.4.1.- Résultats des tests de l'immunité.

- Dosage des Immunoglobulines.
Si le taux d'Ig G est supérieur chez les chevaux malades, par contre la teneur moyenne en Ig A est inférieure de moitié par rapport aux témoins. Aucune évolution de ce taux n'a été observée avant, pendant ou après le traitement.
Le taux élevé d'Ig G semble du à un phénomène compensatoire.

- Tests de l'immunité cellulaire.
Le tableau suivant permet la comparaison des résultats :

	Augmentation d'épaisseur de la peau		Index de stimulation
	IDR à la PHA mm 150 µg	IDR à la Streptokinase mm 100 U	TTL à la PHA
Chevaux atteints de diarrhée sévère	1,6	1,8	0,215
Chevaux guéris de diarrhée sévère	1,6	1,8	5,22
Chevaux atteints de diarrhée légère	Non mesurée	Non mesurée	10,12
Témoins	4,2	3,4	14,09

Tous ces tests sont bien corrélés entre eux pour prouver l'immunodéficience cellulaire existant chez les chevaux atteints de

diarrhée sévère.
Mais alors que le TTL montre une nette augmentation chez les animaux guéris, l'IDR à la PHA comme à la streptokinase est incapable de différencier les animaux guéris des animaux malades.

II.2.4.3.- Conclusion.

Si l'aptitude de l'IDR à la PHA pour diagnostiquer le déficit immunitaire est indéniable, ce test s'avère par contre impuissant à détecter la restauration immunitaire évaluée par le TTL. L'utilisation de ce test in vivo comme un éventuel moyen de pronostic dans ce cas précis est donc impossible.
Cette différence peut s'interpréter par le fait qu'il est peut-être plus difficile d'apprécier une légère augmentation de la réponse in vivo, tandis que la technique in vitro est plus fine dans sa mesure.
Une autre hypothèse mentionne que la réponse inflammatoire qui est aussi déprimée pendant la maladie n'est toujours pas redevenue normale et ne permet pas à la réaction d'hypersensibilité retardée de s'exprimer.

Ces résultats s'opposent à ceux de la leucémie lymphoïde chronique de l'homme où se développe une réaction positive in vivo malgré la négativité du TTL.

Donc, si dans le cas général, l'interprétation de l'IDR à la PHA ne pose pas de problèmes, il faut savoir qu'il existe aussi des réactions faussement positives ou négatives.

C O N C L U S I O N

-o-o-o-o-o-o-o-

Cette étude a eu pour but d'explorer les possibilités d'utilisation de l'IDR à la PHA en médecine vétérinaire.

Une première partie, théorique, a permis de dégager les caractères originaux de ce test. Nous nous sommes fondés sur les travaux effectués de façon exhaustive en médecine humaine, qui nous ont aidé à mieux comprendre la signification, le mode d'emploi et d'interprétation de l'IDR à la PHA. Ces données ont facilité l'analyse des résultats obtenus chez les animaux domestiques, décrits seulement par un nombre restreint d'auteurs.
Nous pouvons conclure que l'IDR à la PHA est un moyen d'exploration de l'immunité à médiation cellulaire basé sur un phénomène d'hypersensibilité cutanée de type retardé. La réaction produite, tant en fréquence qu'en intensité est proportionnelle à la dose de lectine injectée. L'âge, pour une dose optimale, ne conditionne pas le pourcentage de réponses positives, par contre l'intensité de la réaction est supérieure chez les animaux adultes par rapport aux jeunes ; ceux-ci, de plus, ne répondent que très passablement à la Concanavaline et au Pokeweed. La PHA est donc la mieux adaptée pour ce test. Quant à la concentration à utiliser, des divergences apparaissent entre auteurs ; il semble en tout cas, qu'elle soit supérieure à celles utilisées chez l'Homme, mais il demeure difficile de déterminer une dose d'élection universelle. Nous pensons que c'est à l'expérimentateur d'en décider lui-même et d'établir les normes de référence pourvu qu'il reste entre les limites de 10 à 50 µg de PHA par injection.
Nous avons montré, quand c'etait nécessaire, les points faibles de ce test, à savoir les fausses réactions ; il n'en demeure pas moins vrai qu'il a su montrer sa fiabilité par comparaison aux autres tests de l'immunité in vivo et in vitro.
L'IDR à la PHA n'est donc pas un test de substitution, mais sa grande facilité d'utilisation lui permet de figurer parmi les premiers tests à réaliser en cas de suspicion d'un déficit de l'immunité cellulaire.

La deuxième partie, prenant appui sur les conclusions de la précédente vise à tracer les orientations pratiques d'utilisation. Les différents exemples choisis constituent simplement un support d'étude ; la liste des cas d'application ne s'arrête pas à ce stade et les qualités de ce test devraient lui ouvrir un champ d'investigation très large. Nous avons ici suggéré son utilisa-

tion selon deux axes majeurs : le dépistage et le pronostic précoce d'immunodéficiences cellulaires, vis à vis desquels le clinicien est souvent désarmé.

L'IDR à la PHA, par son grand intérêt, prouve que simplité et efficacité peuvent aller de pair, une notion importante en médecine vétérinaire.

Vu : Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

Professeur J.F. GUELFI

Vu : le Directeur de l'Ecole Vétérinaire

Professeur R. LAUTIE.

Vu : le Président de Thèse

Professeur FEDOU

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Toulouse, le 23.11.1981

L'Administrateur Provisoire de
L'Université Paul Sabatier

Professeur D. BANCEL

B I B L I O G R A P H I E

-o-o-o-o-o-o-o-

1 - AIRO R., MIHAILESCU E., ASTALDI G.- Skin reactions to phyto haemagglutinin - *Lancet*, 1968, 2, 411.

2 - ASTOR S.H., SPITLER E., FRICK L.- Human leukocyte migration inhibition in agarose using four antigens : correlation with skin reactivity. - *J. of Immunology*, 1973, 110, 1174-1179.

3 - BANKS L.K.- Quantitation of immunoglobulin-bearing lymphocytes and lymphocyte response to mitogens in horses persistently infected by equine infection anemia virus. *Infect. Immun.* 1973, 8, 679-682.

4 - BARTAL A., MEKORI T.- Multiple lymphocyte transformation tests by phytohaemagglutinin in healthy individuals. Transient episodes of decreased lymphocyte blastogenesis.- *Acta Haematologica*, 1978, 60, 148-160.

5 - BLEASE R., WEIDEN P.- PHA as a skin test for the evaluation of cellular immune competence in man. *J.Lab. Clin. Med.* 1973, 81, 538-548.

6 - BONFORTE R.J., TOPILSKY M.- PHA skin test : a possible virus measure of cell -mediated immunity. *J. of Pediatrics*, 1972, 81, 775-780.

7 - BORRONE C., BRICARELLI F.D.- Il test cutaneo alla PHA nel riconoscimento precoce dei deficit di linfociti T. *Pathologica*, 1973, 65, 93-98.

8 - BOURRIER-REYNAUD, TOUTEL P.- Un moyen simple d'évaluation de l'immunité cellulaire chez l'enfant : le test cutané à la PHA. *Rev. Fr. Allerg.*, 1978, 18, 191-200.

9 - BOURRILLON R.- Interaction des lectines avec les membranes de surface des cellules normales et tumorales. *Le Concours Médical*, 1974, 31-51.

10- BRODEY R.S.- Correlation of in vitro immune response with clinical course of malignant neoplasia in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1975, 36, 75-79.

11 - BROWN A.L.- Relationship between measles and canine distemper virus determined by delayed-type hypersensivity reactions in dogs. *Nature*, 1974, 248, 344-345.

12 - BRUMMERSTEDT E.- Cutaneous hypersensivity to 2-4-dinitrochlorbenzène in calves. *Nord Vet. Med.*, 1973, 25,392-398.

13 - BURGIO R., ASTALDI G., GENOVA R.- Cytology of skin reaction to different inoculated substances.*Path. Europ.*, 1969, 4, 138-151.

14 - BURGIO R., CURTONI E.- Skin reactivity in chilhood - PHA skin test and STK skin test. *Pediatrics Research*, 1971, 5, 88.

15 - CATALONA W.J.- Correlations about cutaneous reactivity to DNCB, PHA-induced lumphocyte blastogenesis and peripheral blood E rosettes. *Clin. Exp. Immunol.* 1975, 19, 327-333.

16 - COCHERELL,HOOWER E.A.- Inhibition of normal lymphocyte mitogenic reactivity by serum from feline leukemia infected cats. *Cancer Research*, 1977, 37, 3985-3989.

17 - COULET M.- Lectines d'hier et d'aujourd'hui. *Annales d'Immunologie*, 1979, 1, 6-13.

18 - CURTIS J.E., HERSH E.M.- Cellular immunity in man : correlation of leukocyte migration inhibition factor formation and delayed hypersensivity. *Cell. Immun.* 1973, 8, 55-61.

19 - DUDIN G.- The human leukocyte test system. *Mut. Res.*, 1974, 23, 279-291.

20 - GEORGE G. et coll. - Tests cutanés explorant l'immunité cellulaire des malades en réanimation. *Nouvelle Presse Médicale*, 1978, 7, 2541-2544.

21 - HALPERN G.M.- Le test de transformation lymphoblastique : techniques actuelles, applications pratiques. *Le Concours Médical*, 1973, 3063-3074.

22 - HEALEY M.C.- Immunodeficiency in canine demodectic mange.
I - experimental production of lesions using anti-lymphocyte serum.
II - skin reactions to PHA and ConA.
Vet. Parasitology, 1977, 3, 121-140.

23 - HIRSH D.C. and coll.- Suppression of in vitro lymphocyte transformation by serum from dogs with generalized demodicosis. *Am. J. Vet. Res.* 1975,36, 1591-1594.

24 - HODGIN E.C., Mc GUIRE T.C.- Evaluation of delayed hypersensivity responses in normal horses and immunodeficient foals. *Am. J. Vet. Res.* 1978, 39, 1161-1167.

25 - HOLLINSHEAD A.C., STEWARD T.H.M.- Delayed hypersensivity reactions to soluble membrane antigens of human malignant lung cells. *J. of Nat. Cancer Institute*, 1974, 52, 327-337.

26 - INDUSTRIE BIOLOGIQUE FRANCAISE.- Fiches techniques des lectines.

27 - JACOBS R.M.- Inhibition of lymphocytes blastogenesis by sera from cows with lymphoma. *Am. J. Vet. Res.* 1979, 41, 372-376.

28 - JACOBS R.M.- Response of cows with lymphoma to the intradermal injection of tumor cell antigens and PHA. *Can. J. Comp. Med.*, 1981, 45, 43-50.

29 - KOCHMAN S., CHARREIRE J.- Intérêt du test de transformation lymphoblastique dans le diagnostic de l'hypersensibilité retardée et l'intolérance médicamenteuse. *La Presse Médicale*, 1969, 77, 1944-1845.

30 - KRAKOWKA S.- Age-related susceptibility to infection with canine distemper virus in gnotobiotic dogs. *J. of Infect. Dis.*, 1976, 134, 629-632.

31 - KRAKOWKA S.- Effects of canine distemper virus infection on lymphoïd function in vitro and in vivo. *Infect. Immun.* 1975, 11, 1069-1078.

32 - KRAKOWKA S.- Intradermal mitogen response in dogs : correlation with outcome of infection by canine distemper virus. *Am. J. Vet. Res.*, 1977, 38, 1539-1542.

33 - KRAKOWKA S.- Lymphocyte associated immune response to canine distemper virus and measles in distemper-infected gnotobiotic dogs. *Am. J. Vet. Res .*,1979, 40, 669-672.

34 - LAWLOR G.J. and coll.- PHA skin test in the diagnosis of cellular immunodeficiency. *J. All. Clin. Immunol.*, 1973, 52, 31-37.

35 -LESOURD B.- Un test simple d'immunité cellulaire au lit du malade : "la multipuncture". *La Nouvelle Presse Médicale*, 1980, 9, 3435-3442.

36 - LEW A.M. and coll.- Immunologic aspects of combined immunodeficiency disease in arabian foals. *Am. J. Vet. Res.*, 1980, 41, 1161-1166.

37 - LEWI S.- Allergie cutanée tuberculinique et transformation blastique des lymphocytes cultivés in vitro en présence de tuberculine. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1970, 119, 630-645.

38 - LEWI S., KERBER S.- Transformation blastique in vitro et réaction cutanée à la PHA chez les personnes âgées. *Gerontologica*, 1970, 16, 16-24.

39 - Mc CULLOUGH B., KRAKOWKA S.- Experimental canine distemper virus induced lymphoïd depletion. *Am. J. of Patho.*, 1974, 74, 155-164.

40 - Mc GUIRE T.C.- Combined immunodeficiency : a fatal disease in arabian foals. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1974, 164,70-76.

41 - Mc GUIRE T.C.- Combined immunodeficiency in horses : characterization of the lymphocyte defect. *Clin. Immuno. Immunopatho.*, 1974, 3, 555-566.

42 - Mc GUIRE T.C.- Hypogammablogulinemia predisposing to infection in foals. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1975, 166, 71-75.

43 - O CONNEL X.- Lymphocyte stimulation tests in cancer patients. *Surgical Forum*, 1970, 107-109.

44 - OPPENHEIM J., BLEASE R.- Defective lymphocyte transformation and delayed hypersensivity in Wiskott-Aldrich Syndrome. *J. of Immunology*, 1970, 104, 835-844.

45 - OPPENHEIM J.- Relationship of in vitro lymphocyte transformation to delayed hypersensivity in Guinea-pigs and man. *Fed. Proc.*, 1968, 27, 21-27.

46 - PERRYMAN E.L., Mc GUIRE T.C.- Evaluation for immune system failures in horses and ponies. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1980, 176, 1374-1377.

47 - PERRYMAN E.L. and coll.- Immunologic reactivity of the cat : immunodepression in experimental feline leukemia. *J. of Cancer Inst.*, 1972, 49, 1357-1361.

48 - SARKONY I., CARON G.A.- Effect of PHA en Guinea-pig skin in vivo. *Nature*, 1966, 2,105-106.

49 - SCHRECK R., STEFANI E.- Lymphocytic and intradermal reactions to PHA. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1963, 22,428.

50 - SOKAL J.E.- Lymphocyte response to PHA in Hodgkin's disease. *Am. J. of Medecine*, 1970, 48, 728-733.

51 - STEVENS D.R.- Immune deficiency in a dog with distemper. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1976, 168, 493-498.

52 - STREILEN J.W.- Transplantation immunity and delayed cutaneous hypersensivity reactions in dogs. *J. of Immunology*, 1967, 98,601, 608.

53 - TARGOWSKI.- Serum immunoglobulin, dermal response and lymphocyte transformation studies in horses with chronic diarrhea. *Infect. Immun.*, 1975, 12, 48-54.

54 - THILSTED J.P.- Correlation of in vitro and in vivo tests for cell -mediated immunity in the dog.*Am. J. Vet. Res.* 1979, 40, 1313-1315.

55 - THILSTED J.P.- Delayed cutaneous hypersensivity in the dog: reactions to tuberculin purified proteine derivative and coccidioidin. *Am. J. Vet. Res.*, 1978, 39, 1702-1705.

56 - THILSTED J.P.- Lymphocyte transformation in the dog : response of lymphocyte from normal and immune dogs to PHA coccidioidin and PPD. *Am. J. Vet. Res.*, 1977, 38,81-86.

57 - VERMESSE G.- Modifications immunitaires dans les suites opératoires immédiates. *Nouvelle Presse Medicale*, 1978,7, 529-532.

58 - VIALLAT J.P., BOUTIN C.- Le test à la PHA : application en carcinologie. *Rev. Fr. Mal. Resp.*, 1979, 7, 54-56.

59 - VOLLIN P.- Les lectines : des passe-partout membranaires. *La Recherche*, 1973, 4, 78-79.

60 - WAGNER W.- L'IDR à la PHA, intérêt en pédiatrie. *Thèse Doc. Med.*, Paris Créteil, 1980.

61 - WAGNER X., REINERT Ph.- L'intradermoreéaction à la phytohemagglutinine : intérêt en pédiatrie. *La Nouvelle Presse Médicale*, 1980, 9, 1077-1080.

62 - WILKIE B.N.- Deficient cutaneous response to PHA in healthy puppies from a kennel with high prevalence of demodicosis. *Can. J. Comp. Med.*, 1979, 43, 415-419.

63 - WOYD.- Hemagglutinating substances for human cells in various plants. *J. Immunol.*, 1949, 62, 333-339.

TABLE DES MATIERES

-o-o-o-o-

INTRODUCTION 1

PREMIERE PARTIE - L'IDR A LA PHA, ORIGINALITE THEORIQUE VIS A VIS DES AUTRES TESTS DE L'IMMUNITE 3

I - ETUDE DE LA PHYTOHEMAGGLUTININE OU PHA 5

I.1.- Origine du terme 5
I.2.- Propriétés biologiques 5
I.2.1.- Erythroagglutination 5
I.2.2.- Cytoagglutination 5
I.2.3.- Mitogénicité 5
I.2.4.- Précipitation des macromolécules glucidiques 6
I.2.5.- Conclusion 6
I.3.- Propriétés physico-chimiques, mode d'action..... 6

II- PHYSIOLOGIE DE LA REPONSE IMMUNITAIRE 7

II.1.- Les cellules non spécialisées : les macrophages 7
II.2.- Les cellules spécialisées : les lymphocytes ... 7
II.2.1.- Les lymphocytes B 7
II.2.2.- Les lymphocytes T 7
II.2.2.1.- Propriétés 7
II.2.2.2.- Rôle dans la réponse immunitaire à médiation cellulaire 8

III- TESTS D'EXPLORATION DES CAPACITES IMMUNITAIRES 9

III.1.- Immunité non spécifique 9
III.2.- Immunité spécifique 9
III.2.1.- Humorale 9
III.2.1.1.- Les immunoglobulines 9
III.2.1.2.- Explorations spécifiques des lymphocytes B 9
III.2.2.- Cellulaire 10
III.2.2.1.- Examens courants 10
III.2.2.2.- Exploration spécifique des lymphocytes T 10
III.2.2.3.- Exploration des phénomènes à médiation cellulaire 11

IV - DISCUSSION.-

IV.1.- Intérêt de la PHA par rapport aux antigènes microbiens 12
IV.2.- Différents modes d'utilisation de la PHA 12
IV.2.1.- In vitro 12
IV.2.2.- In vivo : intradermoréaction 13

IV.2.2.1.- Etude macroscopique 13
IV.2.2.2.- Etude histologique 13

IV.3.- Conclusion 14
IV.3.1.- Signification de l'IDR à la PHA 14
IV.3.2.- Comparaison de l'effet de la PHA in vivo et in vitro 15

DEUXIEME PARTIE - L'IDR A LA PHA : RESULTATS PROPRES ET COMPARATIFS DE CE TEST D'EXPLORATION DE L'IMMUNITE CELLULAIRE. 17

I - CHEZ UNE POPULATION TEMOIN : RECHERCHE DE NORMES D'UTILISATION ET D'INTERPRETATION 19

I.1.- Chez les animaux domestiques 19
I.1.1.- Espèce canine 19
I.1.1.1.- Méthodes in vitro 19
I.1.1.2.- Méthodes in vivo 20
I.1.1.3.- Comparaison des méthodes in vivo et in vitro 21
I.1.1.4.- Conclusion 22
I.1.2.- Chez le cobaye 23

I.2.- Chez l'homme 23
I.2.1.- La "multipuncture" 23
I.2.2.- L'intradermoréaction à la Phytohemagglutinine 25
I.2.2.1.- Matériel et méthodes 25
I.2.2.2.- Résultats 26
I.2.2.3.- Discussion 32

II- DANS DIFFERENTS CAS DE DEPRESSION DE L'IMMUNITE CELLULAIRE 35

II.1.- L'IDR à la PHA : moyen de dépistage précoce d'une immunodéficience cellulaire 35
II.1.1.- L'immunodéficience primaire de type combiné chez les poulains de race Arabe 35
II.1.1.1.- Matériel et méthodes 35
II.1.1.2.- Résultats 37
II.1.1.3.- Discussion 43
II.1.2.- La démodécie 44
II.1.2.1.- Démodécie et immunodéficience cellulaire 45
II.1.2.2.- L'IDR à la PHA, moyen de dépistage précoce d'une immunodépression cellulaire primaire 47
II.1.2.3.- L'IDR à la PHA et la restauration immunitaire 48
II.1.3.- Conclusion 49

II.2.- L'IDR à la PHA, moyen de pronostic précoce lors d'immunodéficience cellulaire 50
II.2.1.- Dans les maladies virales 50
II.2.1.1.- Maladies virales et immunodéficience cellulaire 50
II.2.1.2.- L'IDR à la PHA et le pronostic dans la maladie de Carré 50
II.2.2.- En carcinologie 55
II.2.2.1.- Immunodéficience et cancer 55
II.2.2.2.- L'IDR à la PHA et le pronostic en cancérologie 57
II.2.3.- En période post-opératoire 58
II.2.3.1.- Etat post-opératoire et immunodéficience 58
II.2.3.2.- L'IDR à la PHA et le pronostic en période post-opératoire 59
II.2.4.- Limites de l'IDR à la PHA moyen de pronostic 60
II.2.4.1.- Les animaux 61
II.2.4.2.- Résultats des tests de l'immunité 61
II.2.4.3.- Conclusion 62

CONCLUSION 63

BIBLIOGRAPHIE 67

*